

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE DE SCINCE DE MATIERE
DEPARTEMENT DE CHIMIE

N° :



DOMAINE : SCIENCE DE LA MATIERE

FILIERE : CHIMIE

OPTION : CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par: ZERROUAK Khaled

HADJI Noura

Intitulé

Contribution à l'étude phytochimique et biologique
de l'espèce *Artémisia herba alba* de la région de
khenchela

Soutenu devant le jury composé de:

le : 15/07/2019

Dr. BEN NABILA Nabila

Université de M'Sila

Président

Dr. HADROUG Aldjia

Université de M'Sila

Rapporteur

Dr. LAIB Nouri

Université de M'Sila

Examineur

Année universitaire : 2018 /2019



Remerciements :

Je Remercie ALLAH qui m'a facilité ce travail

Mes Sincères Remerciements :

À mon Encadreur, Dr Hadroug Aldjia Enseignante - Chercheure, à l'Université
de M'sila pour ses Efforts, et sa patience.

Aux Membres de jury : Monsieur, Laib Naouiet Madame Ben nabila . nabila

A DR belhattab R. chef de laboratoire microbiologie. Université Sétif

À tous les Enseignants du domaine Chimie au pôle universitaire - M'sila

À tous les personnels qui ont m'aider à réaliser

Ce travail.



Dédicace :

À ma Chère Maman, qui sème les bonnes mœurs à mon âme, qui passe la nuit à côté de moi quand je suis malade, et qui a une énergie énorme d'amour et de tendresse .

à mon Père qui a toujours un bon exemple de volonté et de courage .

Maman, Papa ce petit travail est le fruit de vos prières et de vos conseils.

À mes Sœurs : Amel et Amina pour leurs soutien moral

À mes frères : Abde alaziz et le petit Ishak qui aime beaucoup les plantes.

À tous les Personnes qui m'aide , qui m'encourage et qui me donne l'Espoir.

Noura



Dédicace

Avant tout chose, je dédie le DIEU, le tout puissant

Pour m'avoir donné la force et la patience

*On remercie ceux qui ont veillé sur nous depuis toujours
ceux qui nous ont fait*

*Confiance, qui nous ont soutenue sans faille dans tous nos
projets et qui ont toujours accepté nos choix, merci à nos parents et à
nos familles.*

Merci à nos amis pour leur présence et leur soutien

Finalement, je remercie tous ceux ou celles qui ont contribué

De près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire

A vous tous, un grand Merci

KHALID

Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude phytochimique et évaluation de l'activité antioxydant et antibactérienne de l'extrait d'une plante médicinale Algérienne *A. herba alba* récolté de la région de kenchla.

Le screening phytochimique nous a révélé la présence de alcaloïdes, tanins et terpénoïdes dans l'extrait, tandis que les flavonoïdes, coumarines, saponosides et anthraquinones sont absents dans l'extrait préparé. Les résultats du dosage montrés que l'extrait éthanolique d'*Artemisia herba alba* est plus riche en composés polyphénoliques ($291 \pm 0,01 \mu\text{g EG/mg}$ d'extrait), en flavones et flavonols ($41.70 \pm 0,007 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

L'activité antioxydant a été évaluée par la méthode de réduction de radical libre DPPH. Les résultats ont montré que l'extrait éthanolique possède une activité antioxydant remarquable. Les résultats ont montré aussi que les huiles essentielles de cette plante ont une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*.

Mots clés: *Artemisia herba alba*, extrait éthanolique, Huiles essentielles, polyphénols, flavones et flavonols, activité antioxydante, DPPH, activité antibactérienne, E.coli, staphylococcus Ep

ملخص

هدف هذا العمل هو دراسة الفحص الكيميائي النباتي وتقييم النشاط المضاد للاكسدة والمضاد للبكتيريا المستخلص من نبتة الشيح الأبيض المستخلص من حمام كنيف ولاية خنشلة. الفحص الكيميائي النباتي كشف لنا عن وجود (ألكالويدات, العفص وتاربانويدات).

التقدير الكمي الاجمالي أظهر غنى "*Artemisia herba alba*" بالبوليفينول (291 ميكروغرام اسيد غاليك | ميلليغرام مستخلص), وفلافونوفلافونول.(41.70 ميكروغرام كورسيتين | ميلليغرام مستخلص).

النشاط المضاد للاكسدة تم تقييمه عن طريق الحد من الجذور الحرة DPPH. النتائج أظهرت ان المستخلص الإيثانولي أعطى نشاط مضاد للأكسدة رائع. وقد أظهرت النتائج ايضا أن الزيت الأساسي للشيح الأبيض أعطى نشاط مضاد للبكتيريا ضد الإشريشية القولونية .

الكلمات المفتاحية: الشيح الأبيض; الأيضات الثانوية; البوليفينول; الأنشطة المضادة للاكسدة; DPPH; الأنشطة المضادة للبكتيريا; الزيوت الأساسية

Abstract

The objective of this work is the study phytochemical and evaluation of the activity antioxidant and antibacterial extract a medicinal plant Algerian *Wormwood* harvested from the region of Khenchela.

The screening phytochemical revealed the presence of alkaloids, tannins and terpenoids in current, while flavonoids, coumarins, saponosides and anthraquinones are absent in current prepared. The results of the assay showed that the ethanolic extract of *Wormwood* is more rich compounds polyphenol ($291 \pm 0,01 \mu\text{g EG/mg extract}$), In flavones and flavonoles ($41.70 \pm 0,007 \mu\text{g EQ /mg extract}$).

Activity antioxidant was reviewed by the reduction method of free radical DPPH. The results showed that the ethanolic extract has activity antioxidant remarkable. The results showed also essential oils of this plant have a antibacterial activity against.

keywords: Wormwood, ethanolic extract, polyphenols, activity antioxidant, antibacterial activity.

SOMMAIRE

Liste des tableaux

Liste des figures

Listes d'abréviations

Introduction 1

Chapitre I: Rappel bibliographique

I.1. Le matériel végétal "*Artémisia herba alba Asso*" 2

I.1.1. Les plantes médicinales 2

I.1.2. La famille des Astéracées 2

I.1.3. L'armoise « Genre *Artémisia*» 2

I.1.4. Les principales espèces d'*Artémisia* en Algérie..... 3

I.1.5. La plante étudiée : Armoise blanche « *Artémisia herba alba Asso* »..... 3

I.1.5.1. Nomenclature et taxonomie 4

I.1.5.2. Description morphologique 4

I.1.5.3. Description géographique..... 5

I.1.5.4. Propriétés et usages..... 5

I.1.5.5. Composition chimique..... 6

I.2. Métabolites secondaires..... 6

I.2.1. Les alcaloïdes 6

I.2.1.1. Structure chimique des alcaloïdes..... 6

I.2.1.2. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques des alcaloïdes..... 7

I.2.2. Les composés phénoliques..... 7

I.2.2.1. Acides phénoliques 7

I.2.2.1. Les flavonoïdes	8
I.2.2.2. Les tanins	10
I.2.2.3. Les coumarines	11
I.2.2.4. Les anthraquinones	11
I.3. Les huiles essentielles (HEs)	12
I.3.1. Définition	12
I.3.2. Localisation et domaines d'utilisation desHEs.....	12
I.3.3. Propriétés physico-chimiques des HEs	12
I.3.4. Composition chimique	13
I.3.4.1. Les terpénoïdes	13
a) Monoterpènes	13
b) Sesquiterpènes	13
I.3.4.2. Les composés aromatiques	14
I.3.5. Activités biologiques des huiles essentielles	14
I.3.6. Toxicité des huiles essentielles	15
ChapitreII : Partie Expérimentale	
II.1. Procédure expérimentale	17
II.2. Matériel et appareillage	18
II.2.1. Matériel végétal.....	18
II.2.2.Moyens.	18
II.2.3. Réactifs chimiques et solvants	19
II.3. Étude phytochimique	19
II.3.1. L'extraction solide-liquide (par méthode de macération)	19
II.3.1.1. Protocole d'extraction	19

II.3.1.2. Choix des solvants	20
II.3.2. Extraction des HEs par hydrodistillation	21
II.3.2.1. Protocole d'extraction	21
II.3.2.2. Détermination de rendement des HEs	22
II.3.3. Screening phytochimique	23
II.3.3.1. Alcaloïdes.....	23
II.3.3.2. Tanins.....	23
II.3.3.3. Flavonoïdes	23
II.3.3.4. Coumarines	23
II.3.3.5. Saponosides	23
II.3.3.6. Anthraquinones	23
II.3.3.7. Terpénoïdes	24
II.3.4. Dosage des composées phénoliques par les méthodes colorimétriques « Analyse qualitative»	24
II.3.4.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT).....	24
II.3.4.2. Dosage des flavones et flavonols.....	24
II.4. Etude biologique	25
II.4.1. Détermination des activités antioxydants	
II.4.2. Etude de l'activité antibactérienne.....	26
II.4.2.1. Les souches bactérienne et conditions de culture.....	26
II.4.2.2. milieux de culture.....	26
II.4.2.3. Test de l'activité inhibitrice.....	27
II.4.2.4. Test d'activité antibactérienne.....	27
II.4.2.5. Lecture des résultats.....	27

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Le Rendement	28
III.2. Secrinings phytochimiques	29
III.3. Caractérisation quantitative de l'extrait éthanolique de la.. plante <i>A. herba alba</i>	31
III.3.1. Dosage des polyphénols totaux	31
III.3.2. Dosage des flavones et flavonols	32
III.4. Activité antioxydant	33
III.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH	33
III.5. Activité antibactérienne	35
Conclusion	

Liste des tableaux

Tableau III.1	: les Rendements des huiles essentielles d' <i>A. herba alba</i> dans différentes régions	29
Tableau III.2	: Caractéristiques d'huile essentielle d' <i>A. herba alba</i>	29
Tableau III.3	: Résultats des Testes phytochimiques de la plante d ' <i>A. herba alba</i>	30
Tableau III.4	: tableaux comparatifs des métabolites secondaires d' <i>A. herba alba</i> dans différentes région	31
Tableau III.5	: Teneur en polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique de partie aérienne de la plante <i>A. herba alba</i>	32
Tableau III.6	: Teneur en Flavones et flavonoles de l'extrait éthanolique	33
Tableau III.7	: valeurs des IC50 des extraits testés	35
Tableau III.8	: L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et des huiles essentielles d' <i>A. herba alba</i>	36

Liste des figures

Figure I.1	: Artémisia	3
Figure I.2	: <i>Artémisia herba alba</i>	4
Figure I.3	: Structure de quelques alcaloïdes	7
Figure I.4	: La structure générale <i>acide hydroxy benzoïque</i>	8
Figure I.5	: La structure générale <i>acide hydroxycinnamique</i>	8
Figure I.6	: Structure de base des flavonoïdes	9
Figure I.7	: Structure de quelques classes de flavonoïdes.....	9
Figure I.8	: Structure des tanins.....	10
Figure I.9	: Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables.....	10
Figure I.10	: Structure d'une molécule de coumarine	11
Figure I.11	: Structure chimique des anthraquinones	11
Figure I.12	: Molécule d'isoprène	13
Figure I.13	: Acyclique: myrcène et Monocyclique: thymol	13
Figure I.14	: Béta-bésabolène	14
Figure I.15	: La vanilline	14
Figure I.16	: Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans l'huile essentielle de <i>l'Artémisia herba alba</i>	16
Figure II.1	: Diagramme général de la procédure expérimentale.....	17
Figure II.2	: <i>Artémisia herba alba</i> après séchage et broyage.....	18
Figure II.3	: Filtration et évaporation de l'extrait éthanolique	19
Figure II.4	: Extraction par macération	20
Figure II.5	: Montage d'Hydrodistillation par Clevenger	21
Figure II.6	: Gélose nutritive de Mueller Hinton	25
Figure III.1	: huile d' <i>A. herba alba</i> extrait	28
Figure III.2	: le Résultat de quelques métabolites secondaires par rapport au témoin.....	30
Figure III.3	: Courbe étalon de l'acide gallique ($\mu\text{g/ml}$)	32
Figure III.4	: Courbe étalon de la quercétine ($\mu\text{g/ml}$)	33

Figure III.5	: Pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction de Concentrations de BHA.....	34
Figure III.6	: Pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations del'extrait d ' <i>A. herba alba</i>	34
Figure III.7	: Les résultats d'effet l'extrait éthanoliques d' <i>A. herba alba</i> sur les deux souches bactériennes.....	36
Figure III.8	: Les résultats des effets HEs d' <i>A. herba alba</i> sur les deux souches bactériennes.....	37

Listes d'abréviations

%	: Pourcentage
<i>A. herba alba</i>	: <i>Artémisia herba alba</i>
A.F.NOR	: Association Française de Normalisation
Abs	: Absorbance
AlCl ₃	: Chlorure d'aluminium
BHA	: Butyl hydroxy
DPPH	: 1,1-diphényle-2-picrylhydrazyle
EtOH	: Ethanol
FeCl ₃	: Trichlorure de fer
HEs	: Huiles Essentielles
G	: Gramme
H ₂ O	: Eau
H ₃ PMO ₁₂ O ₄₀	: Acide phosphomolybdique
H ₃ PW ₁₂ O ₄₀	: Acide phosphotungstique
HCl	: Acide chlorhydrique
H ₂ O ₂	: Le peroxyde d'hydrogène
IC50	: Concentration inhibitrice à 50%
mg	: Milligramme
mg ²⁺	: Magnésium
ml	: Millilitre
mm	: Millimètre
NaOH	: Hydroxyde de sodium
µg	: Microgramme
UV	: Ultra-violet

Introduction

Introduction

Les plantes médicinales sont utilisées depuis l'antiquité, pour soulager et guérir les maladies humaines. En fait, leurs propriétés thérapeutiques sont dues à la présence de centaines, voire des milliers de composés naturels bioactifs appelés: les métabolites secondaires. Ces derniers sont par la suite accumulés dans différents organes et parfois dans des cellules spécialisées de la plante.

De nombreuses études ont mis en évidence la présence de métabolites secondaires doués d'activités biologiques telles que les polyphénols, alcaloïdes, terpènes ...etc.

L'Algérie possède une flore végétale riche et diversifiée. Parmi les plantes médicinales qui constituent le couvert végétal, se trouve le genre *Artémisia*, ce dernier est largement distribué surtout dans les régions semi arides. De nombreuses espèces de ce genre sont utilisées en médecine traditionnelle parce qu'elles renferment plusieurs molécules douées d'activités thérapeutiques, parmi les espèces les plus connues se trouve *Artémisia herba alba*. C'est une plante à différents usages. Elle se caractérise par sa richesse en huile essentielle de composition [1].

Notre contribution consiste particulièrement à l'investigation chimique de l'extrait éthanolique et l'évaluation *in vitro* de l'activité antioxydante en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH. Ainsi que la détermination de l'activité antibactérienne sur deux souches de bactérie ; *Escherichia Coli* et *Staphylococcus Sp* par la méthode de diffusion sur disque.

Cette étude sera subdivisée en trois chapitre :

- Une revue bibliographique où nous apportons des données générales sur les espèces étudiées.
- Une seconde partie est la partie expérimentale dans laquelle nous rapportons les méthodes utilisées.
- les résultats obtenus ainsi que leur discussion et nous finirons par une conclusion.

Chapitre I

Rappel bibliographique

I.1. Le matériel végétal " *Artémisia herba alba* Asso "

I.1.1. Les plantes médicinales

Les plantes médicinales sont toutes les plantes qui auraient une activité pharmacologique pouvant conduire à des emplois thérapeutiques et ce grâce à la présence d'un certain nombre de substances actives dont la plupart agissent sur l'organisme humain. Elles sont utilisées en pharmacie humaine et vétérinaire, en cosmétologie, ainsi que dans la confection de boissons, soit en préparation galéniques [2,3].

I.1.2. La famille des *Astraceae*

Nom scientifique: *Astraceae* Martynov (1820) ou *Compositae* (composées) Giseke (1792). La famille des *Astraceae* est la famille la plus large des plantes à fleurs, avec 1530 genres et plus de 23000 espèces. Elle forme approximativement 10% de la flore du monde [4], et peut se rencontrer sur toute la surface du globe. Cette famille est définie par les deux caractères suivants: groupement des fleurs en capitules et soudure des étamines par leurs anthères [5]. Les principaux genres sont *Senecio* avec 1500 espèces, *Vernonia* : 1000 espèces, *Helichrysum* : 500 espèces, *Artémisia* : 400 espèces, ... [6].

I.1.3. L'armoise « Genre *Artémisia* »

Le genre *Artémisia* comprend des plantes médicinales importantes qui font actuellement l'objet d'une attention phytochimique en raison de leur diversité biologique et chimique. Un grand nombre d'armoises (environ 250 espèces) sont réparties à travers l'hémisphère nord. Plus d'une dizaine d'espèces ont été déterminées en Algérie; certaines sont rares et disséminées en hautes montagnes, ou cantonnées dans certaines limites; d'autres sont au contraire particulièrement abondantes et répandues sur de grandes étendues, par exemple : *Artémisia herba alba* (chih), espèce typique du paysage steppique et saharien. Leur détermination n'est pas très délicate, d'autant qu'elles sont pour la plupart, vivaces et aromatiques [7].

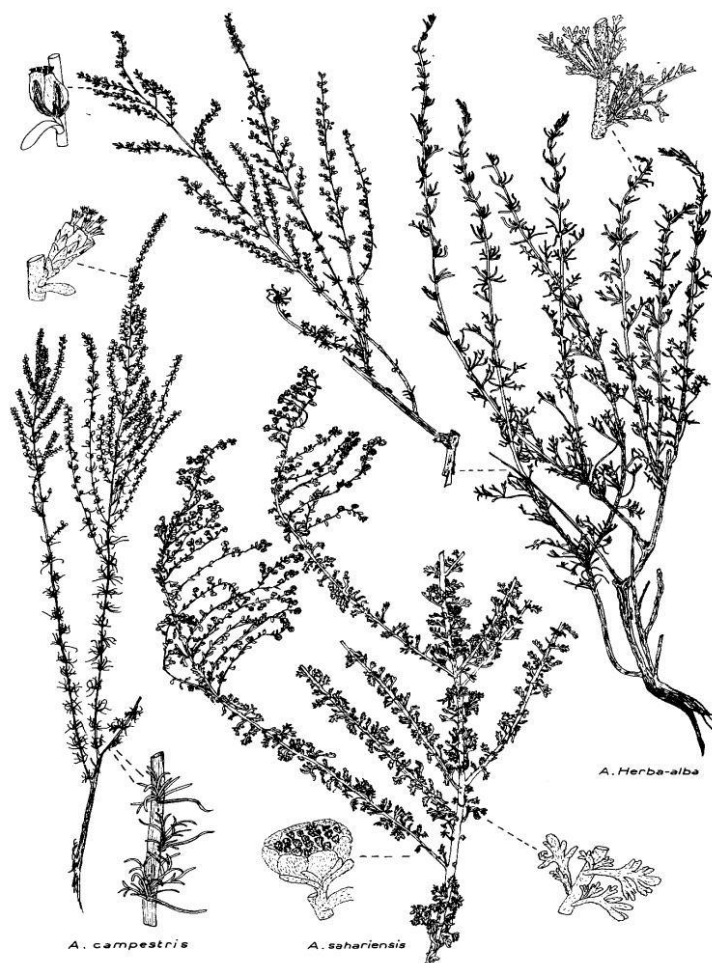


Figure I.1 :Artémisia [5].

I.1.4. Les principales espèces d'Artémisia en Algérie

Les espèces d'Artémisia rencontrées en Algérie sont : *Artémisia herba alba* Asso, *Artémisiacampestris* L, *Artémisiaatlanticacoss et dur*, *Artémisiajudaica* L, *Artémisiaarborescens* L, *Artémisiaabsinthium* L, *Artémisia alba turra*, *Artémisiaverlotorumlatnott*, *Artémisiavulgaris* L, et *Artémisiamonosperma* L[8].

I.1.5. La plante étudiée : Armoise blanche « *Artémisiaherbaalba*Asso »

Connue depuis des millénaires, *Artémisiaherba alba* (armoise herbe blanche) a été décrite par l'historien grec Xénophon, dès le début du IV^e siècle av. J.-C., dans les steppes de la Mésopotamie [9]. Elle a été répertoriée en 1779 par le botaniste espagnol Ignacio Jordán Claudio de Asso del Rio (IPNI).

I.1.5.1. Nomenclature et taxonomie

Artémisia est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse Artémis ; *herba alba* signifie herbe blanche [10].

Phylum: Angiospermeae.

SousPhylum: Dicotylédones.

Ordre: Gampanulatae.

Famille: Asteraceae.

Sous-famille: Asteroioideae.

Tribu: Anthemideae.

Sous-tribu: Artemisinae.

Genre: Artémisia.

Espèce: *herbaalba*.

Et que son nom scientifique est *Artémisiaherbaalba*Asso ou *Artémisiaincultadel*.

I.1.5.2. Description morphologique

*Artémisiaherbaalba*Asso est une plante herbacée à tiges ligneuses et ramifiées, de 30 à 50 cm, très feuillées avec une souche épaisse. Les feuilles sont petites, blanches et laineuses et à aspect argenté. Les fleurs sont groupées en grappes, à capitules très petites et ovoïdes de 1,5 à 3 mm de diamètre[11].



Figure I.2: *Artémisiaherbaalba*

I.1.5.3. Description géographique

Elle est largement répandue depuis les îles Canaries et le Sud-Est de l'Espagne jusqu'aux steppes d'Asie centrale (Iran, Turkménistan, Ouzbékistan) et à travers l'Afrique du Nord, l'Arabie et le Proche-Orient (Palestine et désert du Sinaï, Egypte) [11].

En Algérie, *Artémisia herba alba* Asso est très présente dans les hauts plateaux, les zones steppiques et au Sahara centrale dont le taux de recouvrement est estimé entre 10 et 60 %. On la trouve également dans des zones proches du littoral [12].

L'armoïse blanche présente une vaste répartition géographique couvrant environ 4 millions d'hectares et se développe dans les steppes argileuses et les sols tassés relativement peu perméables. Elle se trouve sur les dayas, les dépressions et les secteurs plus ou moins humide. Elle constitue un moyen de lutte contre l'érosion et la désertification [13].

I.1.5.4. Propriétés et usages

Très recherchée pour ses propriétés pharmacologiques, l'armoïse blanche est utilisée pour traiter: les ulcères, les dyspepsies, les troubles hépatiques; les aphtes, les mycoses, les piqûres d'insectes et de scorpion, et toutes les formes d'empoisonnement. La grande popularité, dont elle jouit, repose vraisemblablement sur les pouvoirs antiseptiques et antispasmodiques qu'elle possède et sur ses propriétés antitumorales, probablement liées aux principes amères [14,15].

En plus de ces propriétés, les feuilles et les sommités fleuries de l'armoïse blanche sont anti-gastralgiques, emménagogues, stomachiques, vermifuges (ascaris, oxyures) [16,17]. Elle est également utilisée dans le traitement des blessures externes et dans le cas de désordre neurologique (tics, spasmes, convulsion, ...) et la maladie d'Alzheimer [16,18,19].

Au Sud-Est du Maroc, l'armoïse blanche est utilisée dans le traitement de l'hypertension et du diabète [20]. L'infusion de cette plante est conseillée pour le rhumatisme et l'arthrite [21].

En Algérie, elle est utilisée par les riverains des massifs de Djebels Tafat, Anini et Migriss (Sétif) contre les nausées et les troubles hépato-gastriques. Elle est recommandée comme antispasmodique (douleurs abdominales, estomac, tube digestif et intestin) [22], et elle est utilisée en cas d'infection oculaire (El Goléa), de refroidissement, de l'obésité, et elle est aussi considérée comme helminthiases (Béni Abbés et à Ouargla) [23].

En alimentation, elle entre dans l'aromatisation de certaines boissons. Mais son emploi reste limité à cause de la toxicité des thuyones qu'elle en contient. Les Marocains ont la coutume de faire infuser de l'armoise dans le café. Exploitée industriellement, l'huile essentielle sert surtout en parfumerie et en cosmétologie [24].

I.1.5.5. Composition chimique

Plusieurs métabolites secondaires ont été isolés et identifiés de *l'Artémisiaherbaalba* dont les plus importants sont :

- Les sesquiterpènes lactones tels que les eudesmanolides et les germacranolides.
- Les flavonoïdes détectés dans l'armoise montrent aussi une diversité structurale allant des flavonoïdes communs (flavones glycosides et flavonols) jusqu'aux flavonoïdes méthylés qui sont très inhabituel. Les flavonoïdes glycosides comprennent les O-glycosides tels que: quercitine-3-glucoside, et des flavones C-glycosides qui sont rares dans le genre *Artémisia*, ainsi que dans l'ensemble des Astéracée [25].

I.2. Métabolites secondaires

Les métabolites secondaires végétaux sont des molécules organiques de grande diversité structurales, elles se trouvent dans toutes les parties des plantes mais ils sont distribués selon leurs rôles défensifs. Cette distribution varie d'une plante à l'autre [26].

On distingue principalement trois grands groupes de métabolites secondaires: les alcaloïdes, les composés phénoliques, et les terpénoïdes.

I.2.1. Les alcaloïdes

Les alcaloïdes sont des composés azotés complexes, de nature basique, présentant généralement de puissants effets physiologiques. Ce sont pour la plupart des poisons végétaux très actifs, dotés d'une action spécifique [27,28].

I.2.1.1. Structure chimique des alcaloïdes

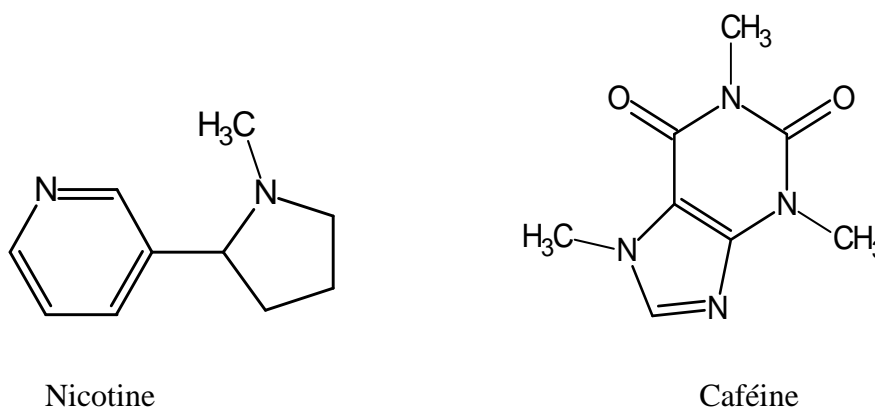


Figure I.3 : Structure de quelques alcaloïdes [29].

I.2.1.2. Propriétés physicochimiques et pharmacologiques des alcaloïdes

Les alcaloïdes jouent un rôle écologique de défense contre des herbivores, chez l'homme ils trouvent cependant plusieurs applications pharmaceutiques [30,31]. Les alcaloïdes présentent fréquemment de propriétés pharmacologiques marquées et ont de nombreuses subtilisations en thérapeutique, notamment au niveau de système nerveux central, du système nerveux autonome et du système cardiovasculaire [32].

On notera aussi l'existence d'anti tumoral, antiparasitaire, curarisant, ... etc. Les alcaloïdes sont utilisés comme anti cancer, sédatifs et pour leur effet sur les troubles nerveux (maladie de Parkinson) [33].

I.2.2. Les composés phénoliques

Les polyphénols sont des composés naturels présents dans toutes les plantes vasculaires [26]. Ils sont des molécules hydrosolubles. L'élément structural de base est un noyau benzénique auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles, libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre, ...) [34].

Les composés phénoliques peuvent être divisés principalement en : acides phénols, flavonoïdes, coumarines, tanins. Toute la classe des polyphénols forment le groupe des composés phytochimiques le plus important des plantes [35].

I.2.2.1. Acides phénoliques

Ce sont des composés phénoliques possédant une fonction acide en plus de la fonction phénol. Ils sont représentés par deux sous classes :

- **Acides hydroxybenzoïques**

Les acides hydroxybenzoïques présentent une structure en C₆-C₁, composés d'un noyau benzénique sur lequel vient s'attacher une chaîne aliphatique à un carbone. Ces composés sont universellement distribués dans le règne végétal, on trouve l'acide gallique, protocatechique, vanillique et syringique [36].

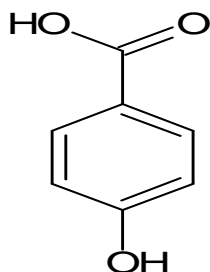


Figure I.4: La structure générale d'un acide hydroxybenzoïque.

- **Acides hydroxy cinnamiques**

Ces composés ont une distribution très large, rarement libre, ils sont souvent estérifiés et peuvent également être acidifiés ou combinés avec des sucres ou des polyols [37]. Ce sont des composés aromatiques avec trois carbones latéraux dans la chaîne C₆-C₃ dont l'acide caféique, l'acide férulique et l'acide coumarique sont les plus connus.

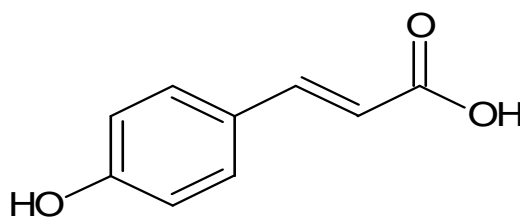


Figure I.5 : La structure générale d'un acide hydroxycinnamique.

Les acides phénoliques possèdent des propriétés biologiques intéressantes : anti-inflammatoires, antiseptiques, immunostimulants [38], antioxydants [39]. Le mieux caractérisé pharmacologiquement, est l'acide caféique qui se montre très efficace contre les virus, les bactéries et les Champignons [40].

I.2.2.2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C₆ (A et B) reliés par une chaîne en C₃ (noyau 2-phényl-1-benzopyrane) [41].

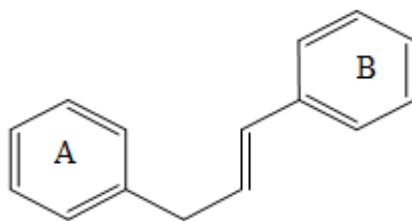


Figure I.6 : Structure de base des flavonoïdes

Structure et classification

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques: flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Figure I.7) [42].

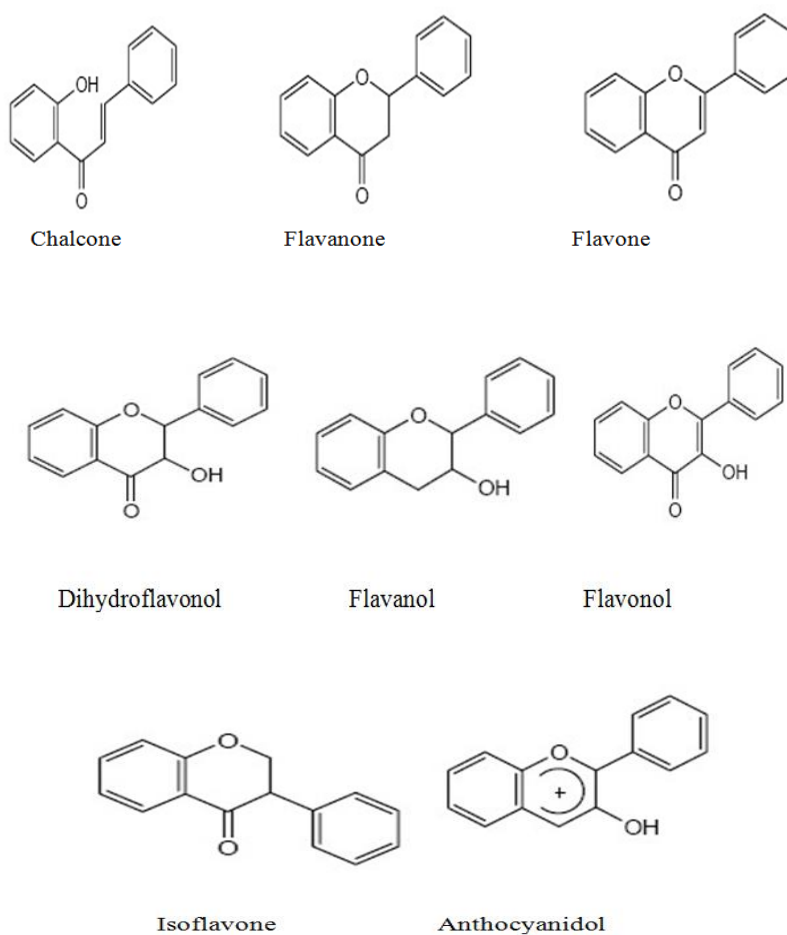


Figure I.7 : Structure de quelques classes de flavonoïdes [43].

I.2.2.3. Les tanins

Les tanins sont des composés phénoliques complexes, hydrosolubles ayant un poids moléculaire compris entre 500 et 3000 da [44]. Ces composés naturellement produits par les plantes et se caractérisent par leur facilité à se combiner aux protéines [45,46,47], grâce à la présence de plusieurs groupements hydroxyles phénoliques [48], aussi à d'autre polymères organiques tels que des glucides, des acides nucléiques, des stéroïdes et des alcaloïdes, pour former avec eux des complexes stables [49].

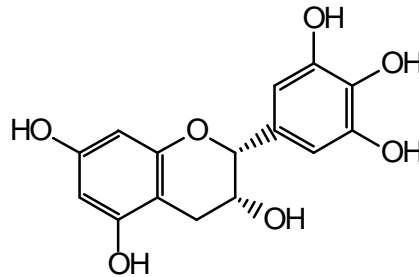


Figure I.8: Structure des tanins

Les tanins sont divisés en deux groupes :

- Les tanins condensés, (flavan-3-ols) formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

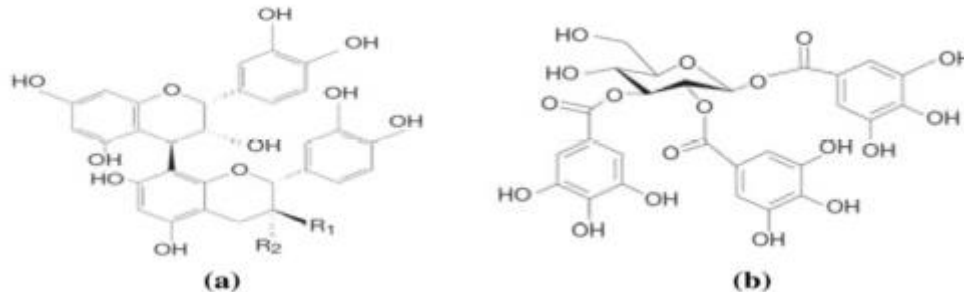


Figure I.9 : Structures chimiques (a) d'un tanin condensé et (b) d'un tanin hydrolysables [50].

Propriétés biologiques des tanins

Les tanins sont des métabolites secondaires des plantes, leur conférant une protection contre les prédateurs (herbivores et insectes). La propriété astringente des tanins est à la base d'autres propriétés (vulnérable, anti diarrhéique), elle permet la cicatrisation, l'imperméabilisation de la peau et des muqueuses, favorise la vasoconstriction des petits vaisseaux [51]. En outre, les tanins ont un très grand pouvoir antibactérien [52,53], antiviral [54], anti inflammatoire [55] et une activité antimutagène [56].

I.2.2.4. Les coumarines

Les coumarines sont des molécules largement répandues dans tout le règne végétal, sont des 2H-1-benzopyran-2-ones, considérées comme étant les lactones des acides 2- hydroxy-7-cinnamiques [57] (Figure I.9). Elles existent sous forme libre solubles dans les alcools et dans les solvants organiques ou les solvants chlorés ou encore liées à des sucres (hétérosides) sont plus ou moins solubles dans l'eau [58].

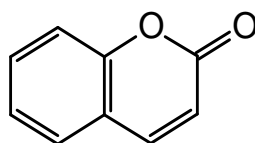


Figure I.10 : Structure d'une molécule de coumarine [59].

Activités biologiques pharmacologiques des coumarines

Les coumarines sont des molécules biologiquement actives, elles manifestent diverses activités: anti-agrégation plaquettaire, anti-inflammatoire, anticoagulante, anti tumorale, diurétiques, antimicrobienne, antivirale et analgésique [60, 61, 62].

I.2.2.5. Les anthraquinones

L'anthraquinone est une molécule dérivée de l'anthracène, elle appartient aux hydrocarbures aromatiques polycycliques [63]. L'anthraquinone existe dans les plantes, les champignons et les insectes. On peut la trouver dans les racines, tiges vertes et dans les graines.

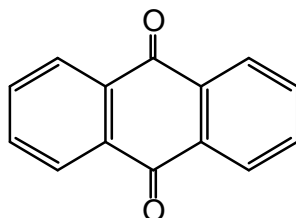


Figure I.11 : Structure chimique des anthraquinones.

Propriétés physico-chimiques

L'anthraquinone se présente sous forme d'un cristal jaune clair, de formule brute $C_{14}H_8O_2$. La température de fusion est de $286\text{ }^{\circ}\text{C}$ et sa température de l'ébullition est de $380\text{ }^{\circ}\text{C}$. L'anthraquinone est soluble dans l'eau et dans l'alcool. Cette substance est chimiquement stable dans des conditions normales [63].

Activités biologiques et pharmacologiques

Ils entrent dans la fabrication de teinte et de pigment. En thérapeutique, il soigne les troubles de l'intestin grêle. Les dérivés naturels de l'anthraquinone ont des effets laxatifs. Ils sont reconnus comme un pesticide naturel [63].

I.3. Les huiles essentielles (HEs)

I.3.1. Définition

Les HEs appelées encore « essences » ou « essences aromatiques végétales » sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes [64].

la norme A.F.NOR NF T 57-006 a donné la définition suivante d'un HE : « produit obtenu à partir d'une matière végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe de Citrus, soit par la distillation sèche » [65].

Les HEs sont définies aussi comme étant des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des monoterpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes [66].

I.3.2. Localisation et domaines d'utilisation des HEs

Les HEs sont formées dans des cellules ou groupes de cellules spécifiques; et sont généralement trouvés dans une partie particulière ou organe, comme les feuilles, les calices de fleurs, fruits, racines, etc. Ces produits naturels sont utilisés comme matières premières dans de nombreux domaines: les parfums, les cosmétiques, l'aromathérapie et la phytothérapie, les épices et la nutrition [67].

I.3.3. Propriétés physico-chimiques des HEs

Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques :

- On trouve généralement les HE, à l'état liquide, à température ordinaire .
- Elles sont volatiles et entraînaibles à la vapeur d'eau.
- Elles sont incolores ou jaune pâles. Cependant, on rencontre quelques-unes d'entre elles qui sont colorées comme l'essence de cannelle, d'absinthe et de camomille qui sont respectivement colorées en rouge, vert et bleu.
- Toutes les HE sont volatiles, odorantes, et inflammables.
- Leur densité est le plus souvent inférieure à 1. Seules trois HE officinales ont une densité supérieure à celle de l'eau, ce sont les HE de cannelle, de girofle et de sassafras.
- Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques.
- Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation.
- Elles possèdent un indice de réfraction souvent élevé et sont douées d'un pouvoir rotatoire (elles sont soit dextrogyres ou lévogyres).
- Leur point d'ébullition varie de 160°C à 240°C. [68, 69, 70]

I.3.4. Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe [71]. En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes sont : Le groupe des terpénoïdes, le groupe des composés aromatiques [70], [72].

I.3.4.1. Les terpénoïdes

Les terpénoïdes constituent une famille de composés largement répandues dans le règne végétal. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leurs squelettes d'une unité isoprénique à 5 atomes de carbones (C_5H_8). (Figure I.12) reconnue par Wallach des 1887 in [73].

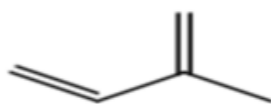


Figure I.12 : Molécule d'isoprène [74].

Les constituants d'huile essentielle sont principalement les mono- et sesquiterpènes; les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux dont la masse moléculaire est faible [58].

a) Monoterpènes

Les composés monoterpènes sont constitués de deux unités isoprène, leur formule chimique brute est $C_{10}H_{16}$ [61]. Les carbures sont presque toujours présents, ils sont acycliques, monocycliques ou bicycliques, ils constituent parfois 90% d'huile essentielle [58].

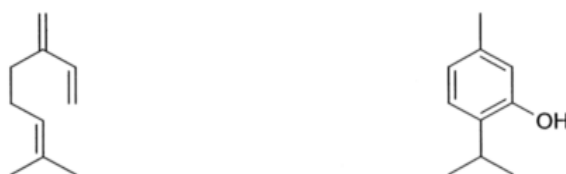


Figure I.13 : Acyclique: myrcène et Monocyclique: thymol [75].

b) Sesquiterpènes

Ils comportent trois unités d'isoprène, leur formule est $C_{15}H_{24}$ soit une fois et demi (sesqui). (Figure I.14) la molécule des terpènes [76].

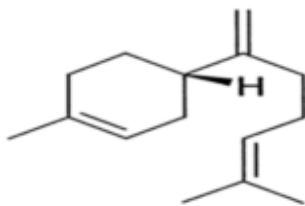


Figure I.14 : Béta-bésabolène [75].

Les huiles essentielles et leur relation avec les terpénoïdes

Les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90%) de composition [76]. La plupart des composants des HEs sont inclus dans deux groupes : les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes mais ces derniers sont moins fréquents par rapport aux terpénoïdes. Les HEs ne contiennent pas de corps gras (lipides) [77,78]. Sont obtenus par distillation par la vapeur d'eau [79], Ils sont plus ou moins modifiés au cours de la préparation [80].

I.3.4.2. Les composés aromatiques

Les huiles essentielles renferment aussi des composés aromatiques dérivés de phénylpropane (C₆ – C₃) mais qui sont beaucoup moins fréquents que les terpènes et dont la biogenèse est totalement différente [81]. Un noyau aromatique est couplé à une chaîne de trois carbones [34].

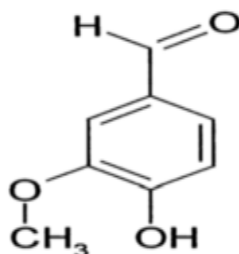


Figure I.15 : La vanilline.

Activités biologiques des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactériennes et d'origine fongique contre les dermatophytes [82].

Dans les préparations pharmaceutiques, les terpènes phénoliques, comme le carvacrol, sont souvent utilisés comme antiseptiques, antibactériens et antifongiques. Ainsi que le thymol est très irritant,

astrigent et caustique. Dans le domaine phytosanitaire et agro-alimentaire, les huiles essentielles ou leurs composés actifs pourraient également être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes [83], et les micro-organismes envahissant les denrées alimentaires [84,85].

I.3.5. Toxicité des huiles essentielles

La toxicité des huiles essentielles se manifeste par la présence de certaines substances qui, ingérées à très fortes doses, peuvent déclencher des crises épileptiformes, convulsions, asphyxie, hémorragie utérines, ... [70].

Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou encarvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldehyde ou phototoxique (huiles de citrus contenant des furocoumarines). D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique. Les cétones comme l'athujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux. Il existe aussi quelques huiles essentielles dont certains composés sont capables d'induire la formation de cancers. C'est le cas par exemple des dérivés de propénylbenzènes comme le saffrole (sassafrus).

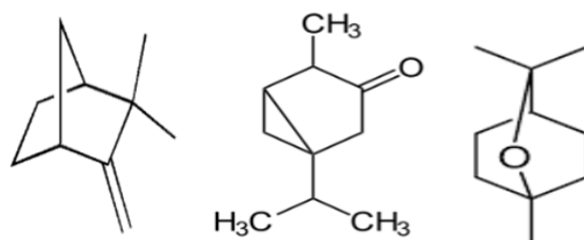
L'huile essentielle d'*Artémisia herba alba*

Au cours des dernières décennies, l'huile essentielle de l'armoise blanche a été soigneusement étudiée et la diversité dans la composition de cette huile recueillie dans différents pays a conduit à de nombreux chémotypes. Généralement, l'huile a été en grande partie rapportée être composée de monoterpénoïdes, principalement oxygénés tels que le 1-8 cinéole, chrysanthène, α et β thujones et le camphre comme composants majeurs [86].

Le Maroc détient 90% du marché mondial de l'huile essentielle extraite de l'armoise blanche [87].

L'examen de la littérature scientifique disponible publiée sur *A. herba alba* a montré que l'effet antidiabétique de cette plante était similaire à celle de la répaglinide et l'insuline ordinaire [88, 89].

Des essais sur les propriétés insecticides de l'huile essentielle d'*A. herba alba* sont menés dans le cadre de la lutte biologique contre *Euchorthippus albolineatus*, un grand ravageur des cultures agricoles [90]. Les résultats obtenus ont montré que cette huile a manifesté une bonne activité acaricide.



Camphènothujone

1-8 cinéole

Figure I.14. Structures chimiques de quelques composés rencontrés dans l'huile essentielle de *l'Artémisia herba alba*.

Toxicité

La toxicité de certaines populations de l'armoise serait liée à la concentration élevée en thuyone. A forte dose, l'armoise blanche est abortive, neurotoxique et hémorragique [91].

CHAPITRE II

Partie Expérimentale

II.1. Procédure expérimentale

Cette étude menée sur la plante d'*Artémisia herba alba* vise à valoriser cette plante médicinale et aromatique très répandue en Algérie, Les principaux objectifs sont :

- Screening phytochimique.
- L'étude du pouvoir antioxydant par la méthode du DPPH.
- Extraction des huiles essentielles d'*Artémisia herba alba*.
- L'étude des activités antibactérienne.

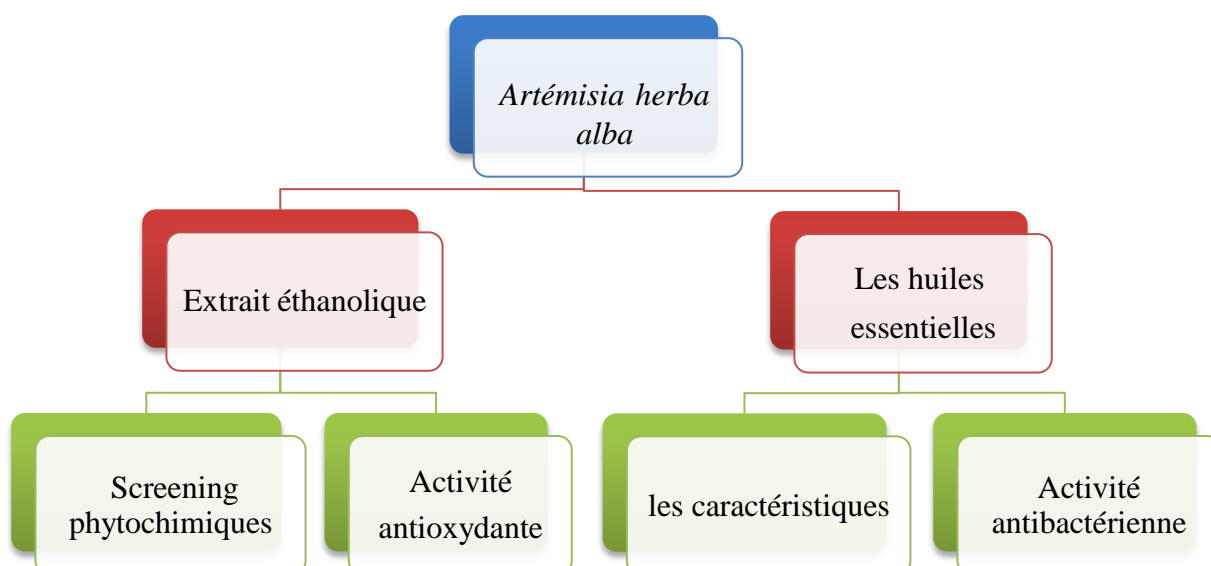


Figure II.1 : Diagramme général de la procédure expérimentale.

II.2. Matériel et appareillage

II.2.1. Matériel végétal

Les échantillons de la plante *Artémisia herba alba* ont été récoltés au début de mois de Mars (2019) à région de Hammam Knif la wilaya de Khenchela (l'Est de l'Algérie) L'identification de la plante a été faite au laboratoire de botanique (Université de M'sila)

Le séchage de la partie aérienne de cette plante a été effectué naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité, pendant 20 jours. Le matériel végétal séché est divisé en deux parties, la partie consacrée pour l'extraction par macération est passée dans un broyeur électrique. Et l'autre partie coupée à petit morceaux et gardée pour l'extraction des HEs (figure II.2). En fin, les échantillons ont été conservés dans des sachets en papier à température ambiante dans un endroit sec et à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure II.2 : *Artémisia herba alba* après séchage et broyage.

II.2.2. Moyens

Spectrophotométrie, étuve, évaporateur rotatif de type Buchi R200, balance de précision, agitateur, boîtes de pétrie, autoclave – entonnoir, plaque chauffante, micropipette, papier Filtre, écouvillon stérile, tubes à essai, pince stérilisée, disques vides stériles, réfrigérateur, Erlen Mayer, les cuves, bain mari, balance électrique, disque de papier wattman (6 mm), lampe UV (254 ; 366 nm). Verrerie: béchers, pipettes, ballons, éprouvettes graduées, flacons 100 ml, flacons 1000 ml, support, spatule.

II.2.3. Réactifs chimiques et solvants

Les réactifs chimiques utilisés dans cette étude sont : Eau distillée, réactif de Dragendorff, NH_4OH , diméthyle sulfoxyde (DMSO), eau physiologique, éthanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), Carbonate de sodium (Na_2CO_3), Magnésium (Mg), Quercitine ($\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$), Acide gallique ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$), Acide

chlorhydrique (HCl), Trichlorure d'aluminium (AlCl₃), Chlorure de fer (FeCl₃), Réactif de Folin-Ciocalteu.

II.3. Étude phytochimique

Afin de mettre en évidence les principales classes chimiques de métabolites secondaires dans l'*Artémisiaherbaalba*, plusieurs réactions de caractérisation ont été réalisées sur un extrait brut qui a été préparé à partir de la partie aérienne de plante étudiée.

II.3.1.L'extraction solide-liquide par méthode de macération

C'est le fait d'isoler les matières naturelles ou composées de la matière première (la plante) avec l'utilisation des solvants organiques, si la matière qui on veut la séparer est solide on applique l'extraction solide-liquide. À cause de sa simplicité d'exécution : un gain de temps, une température ambiante ainsi que des quantités plus faibles de solvant utilisé et une grande reproductibilité [92]. L'opération bien que généralement longue et a rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles [93].

II.3.1.1.Protocole d'extraction

La macération éthanolique a été effectuée sur 100 g de poudre avec 600 ml d'éthanol et placés sous agitation magnétique constante puis centrifugé à 350 tours/min, la macération est maintenue constante pendant 24 h, à la température ambiante du laboratoire cette opération est répétée trois fois. L'extrait éthanolique est récupéré dans un premier temps après filtration du mélange par un papier filtre afin d'éliminer les substances insolubles.

Par la suite, on a transvasé l'extrait dans un ballon pour éliminer le solvant à partir d'un évaporateur rotatif de type Buchi R200 à une température de 45°C. Dans cette dernière étape, on prendra soin de noter la masse du ballon avant et après évaporation afin de calculer le rendement d'extraction, le résidu sec obtenu, et on a conservé cette échantillon à une température de (4°C à 6°C) pour protéger ses caractéristiques physicochimique pour l'étudier son efficacité ... [94].

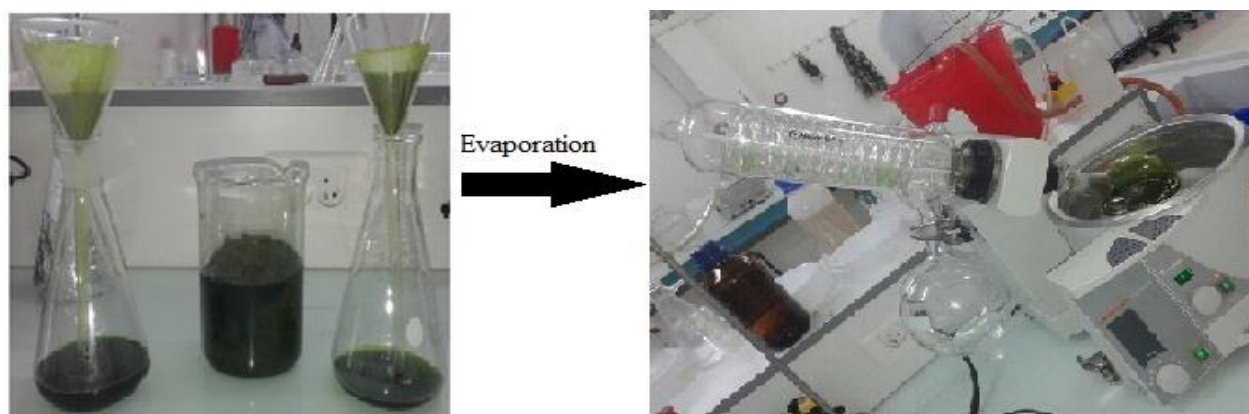


Figure II.3 : Filtration et évaporation de l'extrait éthanolique

II.3.1.2.Choix des solvants

Les polyphénols, classe de molécules plutôt hydrosolubles, sont majoritairement extraits par des solvants de polarité moyenne à forte. Ainsi, les solvants qui ont été retenus pour notre étude. C'est l'éthanol qui présente une polarité moyenne [95].

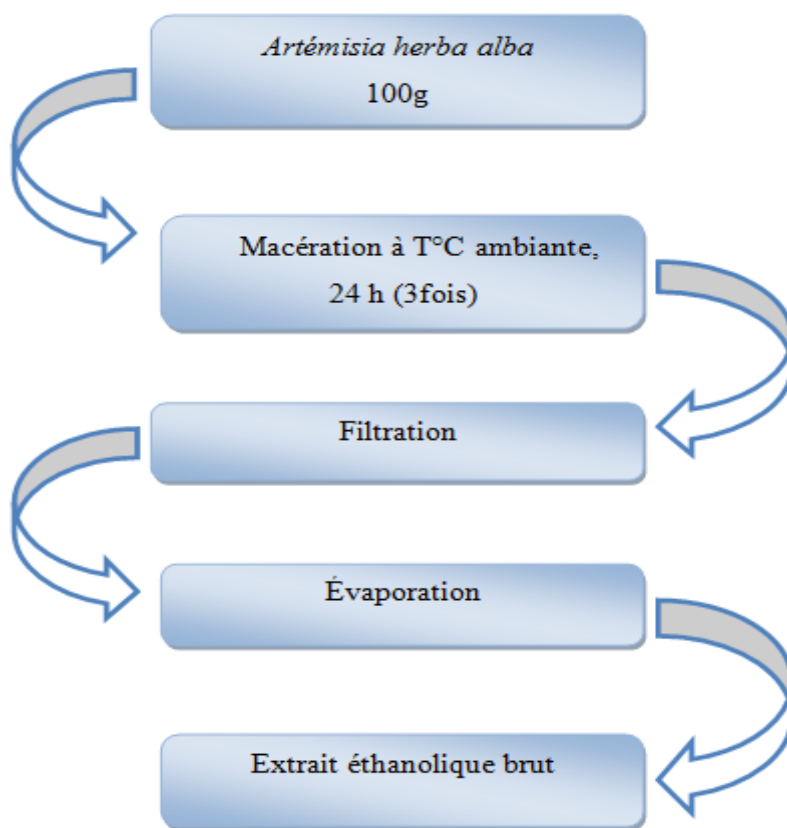


Figure II.4 :Extraction par macération

II.3.2.Extraction des HEs par hydrodistillation

Le choix du procédé d'obtention de l'huile essentielle (HE) est en général limité par les normes liées à son utilisation.

Dans notre étude, les HEs d'*Artémisia herba alba* est obtenue par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger [96].

II.3.2.1.Protocole d'extraction

Cette opération consiste à introduire 50g de la partie aérienne de la plante dans un ballon de 1 litre, imprégné dans 500 ml d'eau distillée, sans remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. L'ensemble est porté à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon; en prenant garde de ne pas chauffer jusqu'à sec. L'HE s'évapore avec les vapeurs d'eau dégagées qui se condensent en

traversant un réfrigérant puis elle est recueillie à l'autre bout du montage (Figure II.5). L'huile essentielle se sépare de l'hydrolat par simple différence de densité. Elle surnage au dessus de l'hydrolat [97], puis attirer l'huile de sortie, et conservée dans un flacon opaques bien fermés à température basse (4 à 5C°). La durée d'extraction est plus de trois heures à partir du début d'ébullition. Le volume d'huile essentielle obtenu est noté pour le calcul du rendement.



Figure II.5. Montage d'Hydrodistillation par Clevenger.

II.3.2.2. Détermination de rendement des HEs

Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisé pour cent. Après récupération des huiles essentielles, le rendement est calculé par la formule suivante:

$$R_{dt} = (m / m_0) \times 100$$

R_{dt} : rendement en huiles essentielles (en %).

m : masse d'huiles essentielles récupérées (g).

m_0 : prise d'essai du matériel végétal (g).

II.3.3. Screening phytochimique

Le but de cette étude est de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques (les alcaloïdes, flavonoïde, ...etc.) Dans la plante d'*Artémisia herba alba* .elle est basée sur les réactions colorimétriques et de précipitation par différents réactifs [98,99].

II.3.3.1. Les alcaloïdes

Dans un tube à essai, introduire 1 ml de l'extrait à analyser. Acidifier le milieu par quelques gouttes de réactif de Dragendorff et ajouter 2 ml eau distillée. L'apparition de la couleur orange, révèle la présence des alcaloïdes.

II.3.3.2. Les tanins

Dans un tube à essai, introduire 2 ml d'extrait plus 2 à 3 gouttes de FeCl_3 (1%), la présence des tanins est indiquée par une coloration verdâtre ou bleu noirâtre.

II.3.3.3. Flavonoïdes

Ajouter dans un tube à essai, 1 ml d'extrait à tester, 1 ml de HCl et quelques copeaux de magnésium (Mg). L'apparition d'une coloration rose ou rouge ou jaune prouve la présence des flavonoïdes.

II.3.3.4. Coumarines (Fluorescence UV)

Introduire 1 ml d'extrait dans un tube à essai, ajouter 0.5 ml de NH_4OH à (10%), mélanger et observer sous UV à 367 nm, Une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

II.3.3.5. Saponosides (test de mousse)

Dans un tube à essai, 10 ml de l'extrait que l'agit énergiquement pendant 15 secondes puis laissé au repos pendant 15 min. Une hauteur de mousse persistante supérieure à 1 cm indique la présence de Saponosides.

II.3.3.6. Anthraquinones

Dans un tube à essai, on ajoute 5 ml de NH_4OH (10%) à 10 ml d'extrait après agitation, leur présence est indiquée par une coloration violette.

II.3.3.7. Terpénoïdes (test de Slakowski)

Dans un tube à essai, on ajoute à 2.5 ml d'extrait, 0.4 ml de chloroforme et 0.6 ml d'acide sulfurique concentré. La formation d'un anneau marron-rouge à l'interface indique la présence des terpénoïdes.

II.3.4. Dosage des composées phénoliques par les méthodes colorimétriques « Analyse qualitative»

II.3.4.1. Dosage des polyphénols totaux (PPT)

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon. Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Ross en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu.

Pour quantifier la teneur en polyphénols, il faut utiliser une courbe d'étalon [100].

➤ La courbe standard d'acide Gallique

Le dosage est réalisé selon la méthode citée avant, en utilisant le réactif de Folin. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_4$ et d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ qui sont réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène Mo_8O_3 . Les composés phénoliques totaux sont dosés de la manière suivante ; 1 ml des solutions d'acide gallique de concentration de 10 jusqu'à 100 $\mu g/ml$, ensuite 1 ml d'une solution de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois dans l'eau distillée est ajouté puis immédiatement après il est ajouté 800 μl d'une solution de Na_2CO_3 (7.5%). Le mélange obtenu est incubé à la température ambiante pendant environ 2 heures à l'abri de la lumière. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 765 nm contre un blanc. Les lectures de la densité optique à 765nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique [101]. Cette réaction se traduit par le développement d'une coloration bleue foncée [102].

La teneur en polyphénols totaux (TPT)

Elle est calculée à partir de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et les résultats sont exprimés en microgramme équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (μg EAG / g extrait).

II.3.4.2. Dosage des flavones et flavonols

Les flavones et les flavonols ont été mesurés à l'aide d'un colorimètre. On a mélangé environ 500 μl de la solution d'extraction avec : 1.5 ml d'éthanol, 0.1 ml d'acétate de sodium et 2.8 ml d'eau distillée ont été ajoutés, ensuite, la solution obtenue a été incubée à température ambiante pendant 30 min, à 415 nm, l'absorbance de mélange réactionnel a été évalué et les résultats ont été enregistrés en mg d'équivalent quercétine par gramme d'extrait (μg EQ/ g extrait) [103].

➤ La courbe standard de Quercétine

La courbe d'étalonnage a été obtenue par des solutions de Quercétine de concentration varie entre [20 jusqu'à 120 $\mu g/ml$]. 1 ml de chaque solution a été introduit à l'aide d'une micropipette dans des

tubes à essai, suivis de l'addition de 1 ml de trichlorure d'aluminium (AlCl_3 2%). Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis ils sont maintenus à l'obscurité pendant 10 minutes. L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 415 nm contre un blanc et en fin on trace la courbe d'étalonnage de quercitine en fonction de concentration : $A = f(C)$ [104].

La teneur en flavones et flavonols est calculée à partir de la courbe d'étalonnage de la quercitine, les résultats sont exprimés en microgramme équivalent de quercitine par gramme d'extrait.

II.4. Etude biologique

II.4.1. Détermination des activités antioxydantes

L'activité antioxydante d'extrait éthanolique d'*Artémisia herbaalba* a été déterminé en utilisant le test du radical DPPH.

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense [105]. Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances antioxydants, qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découle, de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents.

Mode opératoire

L'effet scavenger du DPPH est déterminé en mettant 300 μl d'extrait sont ajoutés à 2700 μl de DPPH (60 μM : dissoudre 2,36 mg dans 100ml d'éthanol). L'absorbance a été lue à 517nm après une heure d'incubation à l'obscurité. Le contrôle positif est réalisé avec une solution d'un antioxydant standard; le BHA dont l'absorbance a été mesurée dans les mêmes conditions que notre extrait. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est exprimé par la formule suivante :

$$\% = [(A \text{ témoin} - A \text{ échantillon}) / A \text{ témoin}] \times 100$$

A témoin : absorbance du témoin.

A échantillon : absorbance de l'extrait.

L' IC_{50} ou concentration inhibitrice de 50 %, est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de radical DPPH.

Les IC_{50} sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des Graphes tracés; pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

II.4.2. Etude de l'activité antibactérienne

II.4.2.1. Les souches bactérienne et conditions de culture

L'activité antimicrobienne des extraits d'*Artémisia herba alba* a été testée contre: *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*.

Le *Staphylococcus epidermidis* est une bactérie largement retrouvée sur la peau humaine saine. Elle n'a jamais été considérée comme une préoccupation majeure, les médecins s'inquiétant davantage des autres bactéries résistantes aux antibiotiques.

L'*Escherichia coli* est une bactérie à Gram négatif connue pour sa forte antibiorésistance et son pouvoir invasif et toxique chez l'homme [106]. Cette bactérie, a étéensemencée juste avant le test antibactérien dans un bouillon nutritif et incubé à 37 °C pendant 24h.

Les souches bactériennes identifiées, ont été obtenues à partir du laboratoire de microbiologie, de l'Hôpital Zahraoui. M'sila.

II.4.2.2. milieux de culture

On utilise gélose nutritive Mueller Hinton pour l'étude de la sensibilité des souches bactériennes à différentes concentrations d'extrait éthanolique.

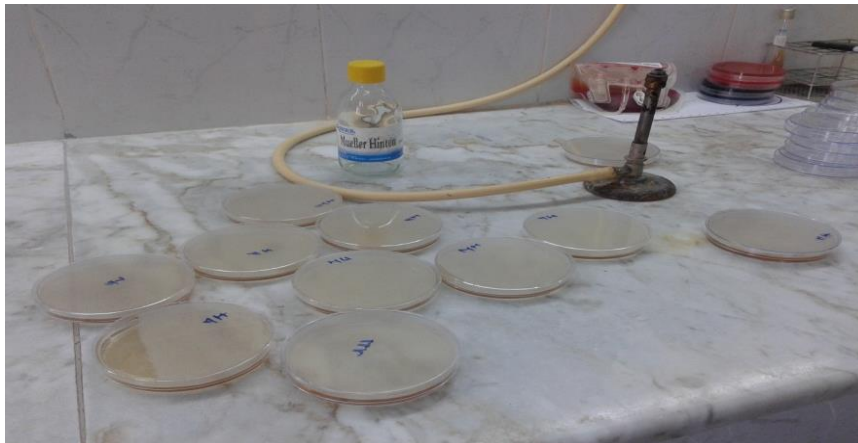


Figure II.6. Gélose nutritive de Mueller Hinton.

II.4.2.3. Test de l'activité inhibitrice

Cette manipulation comporte les étapes suivantes:

A. Préparation d'inoculum

- Prélever à l'aide d'une anse de platine une colonie bactérienne bien isolée.
- Transvaser le contenu de l'ose dans un tube contenant 5 ml de bouillon nutritif stérile.
- Incuber par la suite les tubes à essai à 37°C pendant 24 h.

B. Préparation des disques

- Préparer les disques de papier filtre de 6 mm de diamètre (Whatman N°1)

II.4.2.4. Test d'activité antibactérienne

- Couler dans les boîtes de pétri une quantité de Muller Hinton équivalente à 13 ou 15 ml.
- Laisser les boîtes entrouvertes devant la flamme jusqu'à complète solidification.
- Déposer quelques gouttes de la suspension bactérienne (inoculum) sur la surface de la MullerHinton, puis étaler à l'aide un râteau.
- S'assurer que la surface de la gélose est bien séchée.
- Déposer à l'aide d'une pince stérile les disques (trois disques par boîte), imprégnés des extraits végétal, sur la surface de la Muller Hinton.
- Placer les boîtes de pétri à basse température (4°C) pendant 15 à 30min afin de permettre aux extraits de diffuser dans la gélose avant que les bactéries ne commencent à se multiplier.
- Retirer les boîtes du réfrigérateur et les placer à l'étuve, à la température optimale de croissance du germe à étudier (37 °C) pendant 24 h [107].

II.4.2.5. Lecture des résultats

Après 24 heures d'incubation, mesurer à l'aide d'une règle graduée le diamètre d'inhibition des bactéries autour des disques. Le diamètre (mm) de la zone entourant le disque est proportionnel à la sensibilité du germe étudié.

Chapitre III

Résultats et discussion

Résultats et discussion

III.1. Le Rendement

Le rendement d'extraction est le rapport de la quantité de substances naturelles extraites par l'action extractive d'un solvant à la quantité de ces substances contenues dans la matière végétale. Il dépend de plusieurs paramètres tels que: le solvant, le pH, la température, le temps d'extraction et la composition de l'échantillon

Le rendement de l'extrait brut d '*Artemisia herba alba* par l'extraction, a été déterminé par rapport à la poudre sèche initiale.

Le poids de l'extrait brut sec=28.69g

Donc:

$$\text{Rendement \%} = (\text{la masse d'extrait/la masse de poudre}) * 100$$

$$\mathbf{R=28.69 \%}$$

L'extraction des huiles essentielles a été effectuée par hydrodistillation des plantes sèches. La formation de la 1^{ère} goutte d'HE est observée après 30 minutes de chauffage.



Figure III.1: huile d '*A. herba alba* extrait

Les rendements moyens en HEs ont été calculés par rapport à la matière végétale sèche.

La masse d'HE extrait = 4.2 g

Donc :

$$\text{Rendement \%} = R_{dt} = m / m_0 \times 100$$

$$(4.2 \text{ g} / 150\text{g}) * 100 = 2.8\%$$

R_{dt} : rendement en HEs (en %).

m : masse d'HEs récupérées (g).

m_0 : prise d'essai du matériel végétal (g).

Tableau III.1: les Rendements des huiles essentielles d'*A. herba alba* dans différentes régions

Régions	(%) Rendements	Référence
Laghouat	0,65	[108]
Ain Safra	0,50	[108]
Djelfa	0,95	[109]
Algérie	0,95	[110]

Le rendement de l'HE d'*Artemisia herba alba* de notre étude est le plus élevé (2,8%) par rapport aux autres régions algériennes.

Les caractéristiques des huiles essentielles extraites sont représentées dans le tableau ci-dessous:

Tableau III.2: Caractéristiques d'huile essentielle d'*A. herba alba*

	Aspect	Couleur	Odeur
" Hammam Knif " khenchla	Liquide	Jaune clair	Forte

III.2. Secrinings phytochimiques

La mise en évidence des différentes classes des métabolites secondaires constituant une plante, nous permet d'avoir une bonne idée sur ses activités pharmacologiques. Pour cela nous avons réalisé les tests phytochimiques sur l'extrait préparé à partir de la partie aérienne de la plante *A. herba alba*.

Les résultats des tests phytochimiques réalisés sur la partie aérienne d'*A. herba alba*, sont résumés dans le **tableau III.3**. Il révèle la présence ou l'absence d'un groupe de métabolites secondaires.

Tableau III.3: Résultats des Tests phytochimiques de la plante d '*A. herba alba*.

Le composé chimique	Remarque	Résultats
Alcaloïdes	couleur orange	+
Tanins	couleur bleu noirâtre	+
Flavonoïdes	couleur rose ou rouge	-
Coumarines: Fluorescence UV	observer sous UV	-
Saponosides	apparition de mousse	-
Anthraquinones	couleur violette	-
Terpénoïdes	couleur marron	+

Absence: (_) Présence : (+)

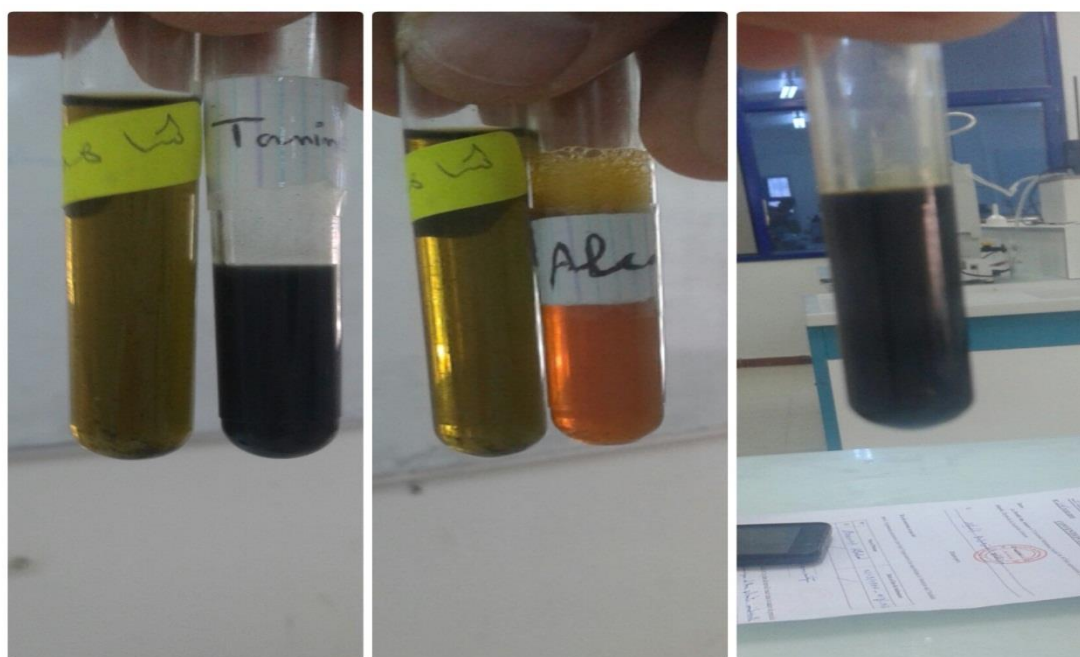


Figure III.2: le Résultat de quelques métabolites secondaires par rapport au témoin

Les résultats obtenus dans les tests phytochimiques de la plante d '*A. herba alba*, ont révélé la présence des Alcaloïdes, Tanins et Terpénoïdes, et l'absence des Flavonoïdes, Coumarines, Saponosides et Anthraquinones.

* Comparaison de notre résultat par des autres travaux antérieurs

Tableau III.4: tableaux comparatifs des métabolites secondaires
d'*A. herba alba* dans différentes région

Métabolites Secondaires	Artemisia herba alba dans différentes région		
	Hammam khenchla	Knif El Hamel M'sila - [111]-	Djelfa [112]
Alcaloïdes	+	+	-
Tanins	+	+	+
Flavonoïdes	-	+	+
Coumarines	-	-	-
Saponosides	-	+	+
Anthraquinones	-	+	+
Terpénoïdes	+	+	/

Presence (+) ; absence (-); pas fait (/)

En comparant nos résultats avec d'autres études effectuées dans d'autres région, on trouve que notre espèce *Artemisia herba alba* est riche en alcaloïdes, tanins, terpénoïdes comparée à celle de El Hamel -M'sila - [111] qui ne renferme que les alcaloïdes, les tanins, flavonoïdes, saponosides, anthraquinones et terpénoïdes, et l'autre *A. herba alba* de Djelfa [112] ne contient que les tanins, les flavonoïdes, les saponosides et les anthraquinones.

III.3. Caractérisation quantitative de l'extrait éthanolique de la plante *A. herba alba*

III.3.1. Dosage des polyphénols totaux

La teneur en phénols totaux est estimée par la method de Folin Ciocalteu

Afin de caractériser l'extrait prepare à partir de la partie aérienne de la plante *A. herba alba*, la quantification des composés phénoliques a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) réalisée par l'acide gallique à différentes concentrations **Figure III.2.**

$$y = 0.004x + 0.1586 \text{ avec } R^2 = 0.981$$

X= la concentration de la solution d'acide gallique ($\mu\text{g} / \text{ml}$).

y = l'absorbance à 765 nm.

R2: est le Coefficient de corrélation. $R^2 = 0,981$ étant proche de 1, on peut affirmer qu'il y a une corrélation linéaire significative entre x et y.

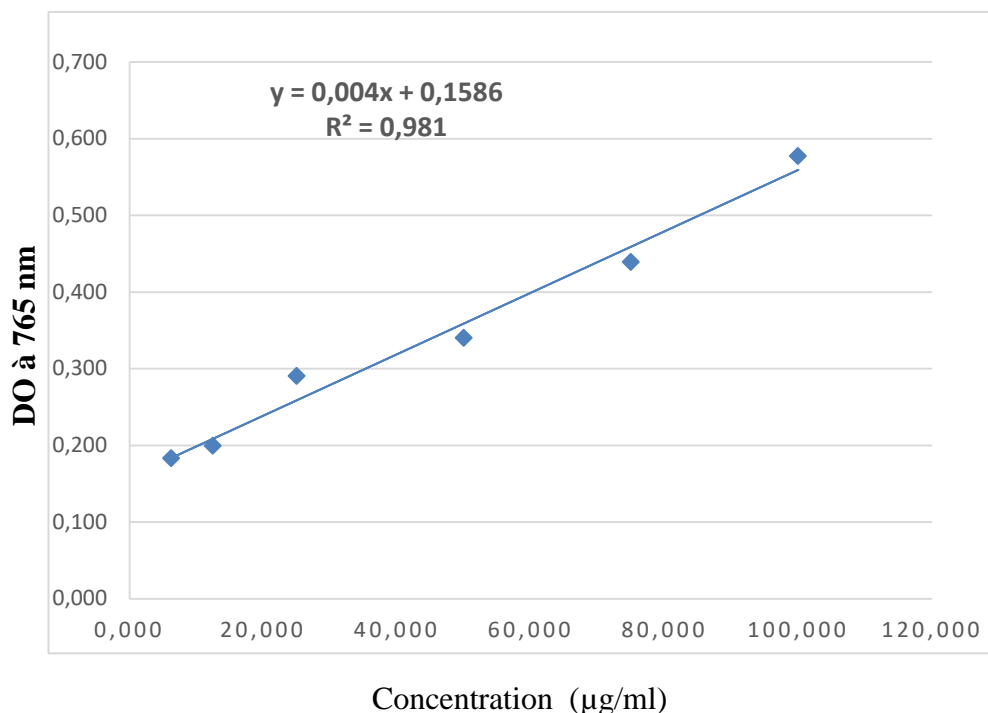


Figure III.3: Courbe étalon de l'acide gallique (µg/ml)

La quantité des polyphénols correspondants à l'extrait étudié a été rapportée en µg équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (µg AG/mg Extrait).

Tableau III.5: Teneur en polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique de partie aérienne de la plante *A. herba alba*

Echantillon	DO 765 nm	Teneur en PPT (µg AG/mg Extrait)
L'extrait d' <i>A. herba alba</i>	0.449	291

Le résultat du dosage des polyphénols d'après les calculs donne une teneur de: $291 \pm 0,01$ µg AG/mg d'extrait.

Le résultat obtenu par Saffidine. K., al. [113] sont conformes avec notre résultat et confirment la richesse de la plante étudiée en polyphénols.

Ont trouvé Saffidine. K., al. [113] une teneur en polyphénols totaux de 114.45 µg AG/g d'extrait Ce résultat est inférieur au notre résultat obtenu.

III.3.2. Dosage des flavones et flavonols

Dans notre dosage nous avons réalisé une méthode colorimétrique basée sur l'utilisation d'un standard qui est la quercétine.

la quercétine considérée comme un contrôle positif, il nous a permis de réaliser une courbe d'étalonnage, d'où on a calculé la teneur en Flavones et flavonoles de l'extrait éthanolique de la plante étudiée qui est exprimée en mg équivalent de la quercétine par gramme d'extrait.

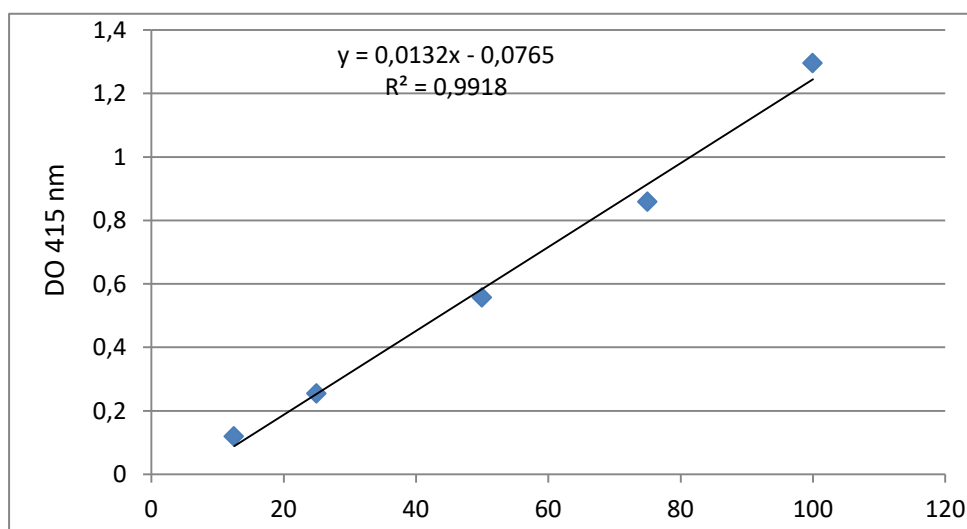


Figure III.4: Courbe étalon de la quercétine ($\mu\text{g/ml}$)

Le résultat de la teneur en Flavones et flavonoles de l'extrait étudié est présent dans le tableau suivant.

Tableau III.6: Teneur en Flavones et flavonoles de l'extrait éthanolique

Echantillon	DO 415 nm	Teneur en FF ($\mu\text{g EQ/mg}$ Extrait)
L'extrait d' <i>A. herba alba</i>	0.474	41.70

Les résultats du dosage des Flavones et flavonoles d'après les calculs donne une teneur de: $41.70 \pm 0,007 \mu\text{g EQ /mg}$ d'extrait.

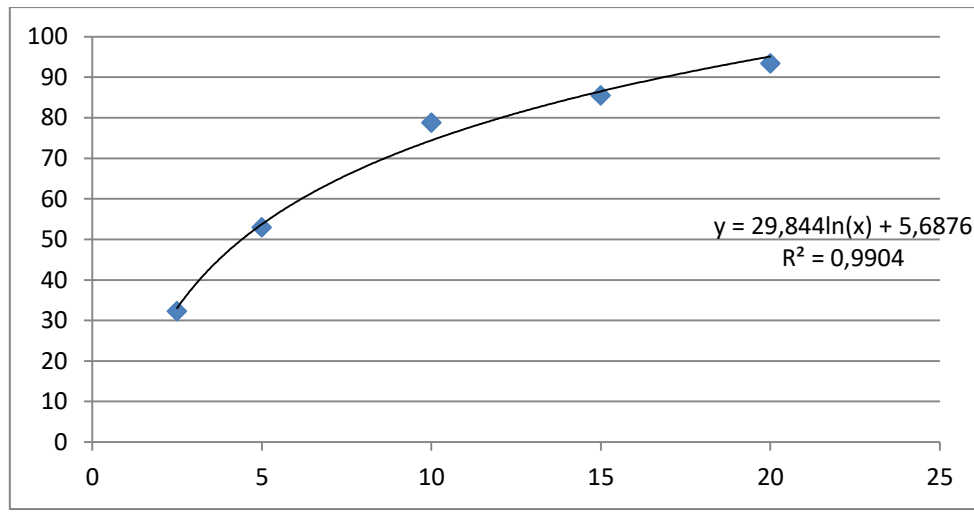
III.4. Activité antioxydant

L'activité antioxydant d'extrait d '*Artemisia herba alba* été évaluée in vitro par la méthode de réduction de radical libre DPPH.

III.4.1. Test de piégeage du radical libre DPPH

L'activité antioxydant de l'extrait éthanolique d '*A. herba alba* et de l'antioxydant standard BHA vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l 'aide d'un spectrophotomètre en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son

passage de la couleur violette (DPPH•) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517 nm.



Concentration (µg/ml)
Figure III.5: Pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des Concentrations de BHA

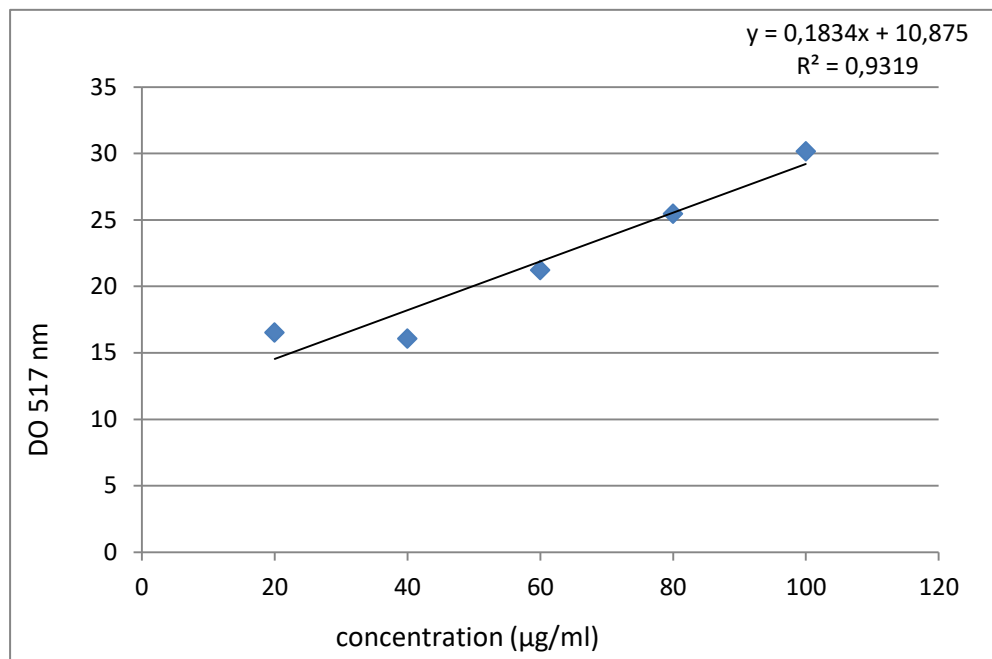


Figure III.6: Pourcentage d'inhibition du radicale libre en fonction des concentrations de l'extrait d '*A. herba alba*.

*** Evaluation de l'IC50**

La capacité antioxydant de l'extrait a été déterminée à partir de l'IC50 (autrement appelée concentration inhibitrice à 50%), c'est la concentration nécessaire pour réduire 50 % du radicale DPPH. Plus la valeur d'IC50 est basse, plus l'activité antioxydant d'un composé est grande [114].

Nous avons déterminés pour notre extrait, la concentration nécessaire pour réduire 50% du radical libre DPPH ou IC50. À partir des équations des régressions linéaires des graphes.

Les valeurs sont représentées dans le tableau suivant:

Tableau III.7:valeurs des IC50 des extraits testés

Echantillons	CI ₅₀ (µg/ml)
BHA	4.39
Extrait <i>d'A. herba alba</i>	213.33

Le résultat présent dans le tableau ci-dessus de l'activité anti radicalaire de l'extrait *d' A. herba alba*, montre que l'extrait testé possède une activité antiradicalaire avec un IC50% de l'ordre de 213.33 µg/ml. En comparaison avec l'antioxydant standard (BHA) qui démontre un IC50%= 4.39 µg/ml, nous constatons que notre extrait est faible par rapport au standard. D'après ces résultats, on constant que l'extrait éthanolique possède une activité 48 fois moins que le standard.

Le résultat obtenu concernant l'IC50 d'extrait *d' A. herba alba* est supérieur aux résultats trouvés par ABABSA N (2018) [115] montre que l'extrait testé possède une activité antiradicalaire avec un IC50% de l'ordre de 0,5945 mg/ml et l'antioxydant standard (l'Acide ascorbique) qui démontre un IC50% = 0,0250mg/ml.

III.5. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et des huiles essentielles d'*A. herba alba*, est testée vis-à-vis de deux souches bactériennes via la méthode de diffusion sur disque.

Les résultats révèlent que l'extrait éthanoliques d'*A. herba alba* pas exercent d'aucun effet antibactérien sur les deux souches bactérienne.

Mais Les résultats révèlent qu'HE d'*A. herba alba* exercent un effet antibactérien sur bactérienne E. coli par rapport le bactérienne S. Ep

Tableau III.8: L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et des huiles essentielles d'*A. herba alba*.

Plante	Zone d'inhibition (mm)							
	Staphylococcus Epidermidis				Escherichia coli			
	1ml	0.5ml	0.25ml	0.16ml	1ml	0.5ml	0.25ml	0.16ml
Extrait <i>A. herba alba</i>	/	/	/	/	/	/	/	/
HE d' <i>A. herba alba</i>	/	/	/	/	12	10	10	8

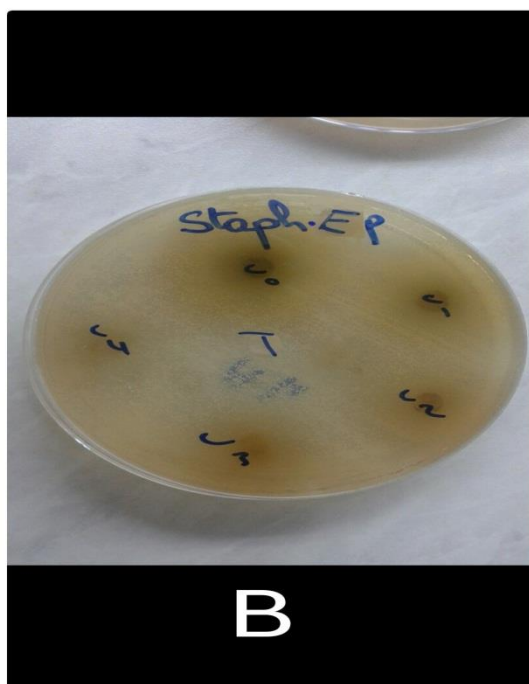


Figure III.7: Les résultats d'effet l'extrait éthanoliques d'*A. herba alba* sur les deux souches bactériennes.

A: effet l'extrait d'*A. herba alba* sur bactérienne *Escherichia coli*

B: effet l'extrait d'*A. herba alba* sur bactérienne *Staphylococcus Ep*

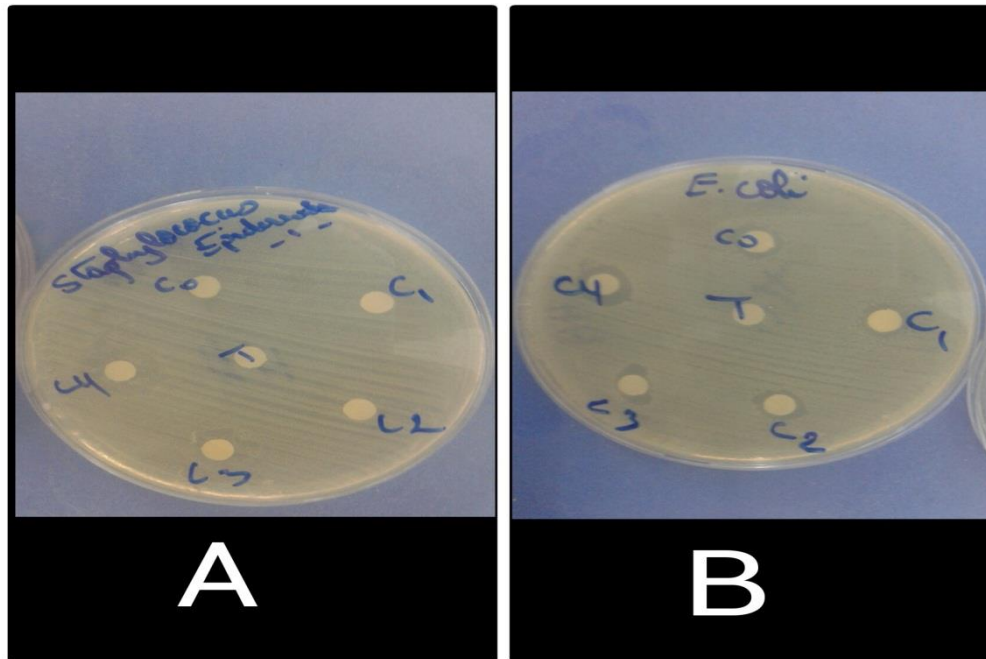


Figure III.8: Les résultats des effets HEs d'*A. herba alba* sur les deux souches bactériennes.

A: effets HEs d'*A. herba alba* sur bactérienne *Staphylococcus Ep*

B: effets HEs d'*A. herba alba* sur bactérienne *Escherichia coli*

Les résultats révèlent que l'extrait éthanolique de la plant *d'A. herba alba* n'exerce aucun effet sur les deux souches bactérienne (*Escherichia coli* et *Staphylococcus Ep*).

Par contre, l'essence de la plant *d'A. herba alba* exerce un effet sur la bactérie *E. coli*.

Conclusion

Le présent travail a pour l'objectif d'effectuer une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante de l'espèce *Artémisia herba alba*, plante Algérienne utilisée en médecine traditionnelle et appartenant à la famille Astéracée.

Les tests phytochimiques réalisés sur l'extrait éthanolique des feuilles de la plante *Artémisia herba alba*, a permis d'identifier plusieurs métabolites secondaires (tanins, flavonoïdes, alcaloïdes, coumarines).

Le dosage des polyphénols totaux à l'aide de la méthode du Folin Ciocalteu a révélé une teneur estimée à $291 \pm 0,01 \mu\text{g EG/mg}$ d'extrait, et pour les flavones et flavonols en utilise la même méthode de trichlorure d'aluminium a révélé une teneur estimée à $41.70 \pm 0,006 \mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait.

Dans la partie biologique de notre travail, nous avons évalué l'activité antioxydante de l'extrait éthanolique par la méthode du DPPH. A l'issue de cette étude, il en ressort que l'extrait EtOH possède une activité antioxydant intéressante. Cette activité est liée en grande partie à la composition de l'extrait et sa richesse en composés phénoliques en particulier les polyphénols. L'activité antibactérienne a été testée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé. Les résultats ont montré que les huiles essentielles de cette plante ont une activité antibactérienne contre *Escherichia coli*.

A la lumière de ces résultats, cette étude préliminaire nécessite d'autres recherches qui nécessite ;

- Un fractionnement et une purification des molécules actives.
- Evaluation de l'activité antioxydante de cette plante par d'autres méthodes in vitro, ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) et ABTS (sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique).
- Recherche d'autres activités biologiques (antidiabétique, antiparasitaire.....).

Le présent travail a pour l'objectif d'effectuer une étude phytochimique et d'évaluer l'activité antioxydante et analgésique de la plante *Mentha pulegium* L. Une série de tests préliminaires a montré la présence de différents métabolites secondaires

Références bibliographiques

- [1] Bouzidi N. (2016) Etude des activités biologiques de l'huile essentielle de l'armoise blanche « *Artémisia herba alba Asso* » Université Mustapha Stambouli de Mascara. Botineau M. .Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition Tec&Doc Lavoisier.
- [2] Naghib F., Mosaddeghe M., Mohammadi S. M. et Ghorbani A. (2005) Labiatea Family in folk medicine in Iran. from anthrobotany to pharmacology. Iranian Journal of pharmaceutical Research. Vol. 2, p 63-79.
- [3] Badulka P. (2007) Plantes médicinales du traitement des pathologies rhumatismales : de la médecine traditionnelle à la phytothérapie moderne. La phytothérapie, vol. 5, p137, 145.
- [4] Pottier G. (1981) *Artémisia herba alba*. Flore de la Tunisie: angiospermes. Dicotylédones. gamopétales.
- [5] Ozenda P. (1983) Flore du sahara. Edition CNRS. 2e édition. p416-442.
- [6] Botineau M. (2010) Botanique systématique et appliquée des plantes à fleurs. Edition Tec&Doc Lavoisier. p1143-1193.
- [7] Baba Aissa F. (2000) Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident. Edition librairie moderne. Rouiba.
- [8] Benmokadem N. (2003) Contribution à l'étude des huiles essentielles produites chez quelques espèces spontanées du genre d'Artémisia. Thèse de Magister. Université de Blida.
- [9] Francis Joannès. (2001) Dictionnaire de la civilisation mésopotamienne. Ed Robert Laffont. ISBN 2221092074.
- [10] Messai L. (2011) Etude phytochimique d'une plante médicinale de l'Est algérien (*Artémisia herba alba*). Thèse de Doctorat. Université de Constantine.
- [11] Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F., and Kaloustian J. (2010) Composition chimique de l'huile essentielle d'Artemisia herba-alba provenant de la région de Biskra (Algérie). Phytothérapie. 8(5). p277-281.

- [12] Bendahou M. (2007) Composition chimique et propriétés biologiques des extraits de quelques plantes aromatique et médicinales de l'ouest algérien. Thèse de Doctorat, Université Aboubekr Belkaid; Tlemcen.
- [13] Ayad N., Djennane A., Ayache H. et Hellal B. (2013) Contribution à l'étude de l'implantation de l'armoise blanche « *Artémisia herba alba Asso* » dans la steppe du sud de Tlemcen. Revue Ecologie- Environnement.
- [14] Bendjilali B., Richard H. et Liddle P. (1984 a) Chémotypes d'armoise Blanche du Maroc. *Artémisia herba alba*. p131-151.
- [15] Atoum M., Al-Charchafchi F. et Modallal N. (2006) Biological activity and antimutagenicity of Water Soluble Phytotoxins from *Artémisia herba alba Asso*. Pakistan Journal of Biological Sciences. 9, p1774-1778.
- [16] Baba Aissa F. (1999) Encyclopédie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb. Edition librairie modern-Rouiba. Alger.
- [17] Djerroumi A. et Nacef. M. (2004) 100 plantes médicinales d'Algérie. Palais du Livre. Algérie. 159p.
- [18] Salah S. M. et Jäger. A. K. (2005a) Two flavonoïds from *Artemisia herba alba Asso* with in vitro GABA-benzodiazepine receptor activity. Journal of Ethnopharmacology. 99, p145–146.
- [19] Salah. S. M. et Jäger. A. K. (2005b) Screening of traditionally used Lebanese herbs for neurological activities. Journal of Ethnopharmacology. 97,p145-149.
- [20] Tahraoui A., El-Hilaly J., Israili Z.H. et Lyoussi B. (2007) Ethnopharmacological survey of plants used in the traditional treatment of hypertension and diabetes in south- eastern Morocco (Errachidia province). Journal of Ethnopharmacology. 110 , p105-117.
- [21] Marc E-B., Nelly A., Annick D-D. et Frederic D. (2008) Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. Journal of Ethnopharmacology. 120 , p315–334.
- [22] Sari M. (1999) Etude Ethnobotanique et pharmacopée traditionnelle dans le tell Setifien. Thèse de Magister. Université de Sétif. p85.

- [23] Maiza K., Brac de la Perrière E.A. et Hammiche V. (1993) Pharmacopée traditionnelle saharienne: Sahara septentrional. Médicaments et Aliments . L'Approche Ethnopharmacologique.p169-171.
- [24] Wink M. (2010) Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites. Blackwell Publishing Ltd. ISBN , p1-17.
- [25] Merghem R. (2009) Eléments de biochimie végétale. BahaEddine Editions, p95-121.
- [26] Parisi O. I., Puoci F., Restuccia D., Farina G., Iemma F. and Picci. N. (2014) Polyphenols and Their Formulations: Different Strategies to Over come the Drawbacks Associated with Their Poor Stability and Bioavailability. Academic Press is an imprint of Elsevier.p29-45.
- [27] Boudjelal A. (2013) Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajuga iva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubium vulgare*) de la région de M'Sila, Algérie. Thèse de Doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba.
- [28] Volack J., Stodola J., (1983) Les plantes médicinales .Ed Grund. Paris.
- [29] Ouahas C., (1996) Chimie Organique, Science biomédicales et Sciences de la nature. Office des publication universitaires. Alger.
- [30] Kanoun K., (2011) Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine). Mémoire de magister. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen.
- [31] Mccalley D.V., (2002) Analysis of the Cinchona alkaloids by highperformance liquid chromatography and other separation techniques, Review. Journal of Chromatography A. Vol (967), p1–19.
- [32] Stöckigt J., Sheludko Y., Unger M., Gerasimenko I., Warzecha H., Stöckigt D., (2002) High performance liquid chromatographic, capillary electrophoretic and capillary electrophoretic. electrospray ionisation mass spectrometric analysis of selected alkaloid groups Review. Journal of Chromatography A. Vol (967), p85–113.

- [33] Gazengel J.M., Orecchion A.M., (2013) Le préparateur en pharmacie. Guide théorique et pratique. 2^{ème} ed. Ed. Tec et Doc. Paris. France. p1443.
- [34] Iserin P., Masson M., Restellini J.P., (2007) Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed. Larousse. Paris. France. 335 p.
- [35] Bruneton. J. (1993) Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 2^{ème} Ed Tec&Doc. Paris.
- [36] Crozier A., Clifford M.N. and Ashihara H. (2006) Plant secondary metabolites: Occurrence, structure and role in the human diet. *Ed Blackwell Publishing Ltd*, p371.
- [37] Skerget M., Kotnik P., Hadolin M., Rizner-Hras A., Simonic M., Knez Z. (2005) Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. *Food Chemistry*. 89, p191–198.
- [38] Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004) Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, 1. p3-6.
- [39] Bossokpi P.L. (2002) Etude des activités biologiques de *Fagara xanthoxyloïdes* LAM (Rutaceae). Thèse de pharmacie, (Bamako) p133.
- [40] Cowan M.M. (1999) Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin. Microbiol Re*, 12 (4), p564-582.
- [41] Bahorun T. (1997) Substances Naturelles actives. La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius.
- [42] Medic Sanic M., Jasprica I., Smolcic Bubalo A., et Mornar A. (2004) Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoids and phenolic acids. *Croatica Chemica Acta*.
- [43] Boukef K. (1986) Les plantes dans la médecine traditionnelle tunisienne. Agence de coopération culturelle et technique. Paris.

- [44] Kamra D.N., Agarwal N., Chaudhary L.C. (2006) Inhibition of ruminal methanogenesis by tropical plants containing secondary compounds. International Congress Series. Vol. (1293), p156–163.
- [45] Makkar H.P.S. (2003) Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins. and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin rich feeds. Small Ruminant Research. Vol. (49), p241-256.
- [46] Mangan J. L. (1988) Nutritional effects of tannins in animal feeds. Nutr. Res. Rev. Vol. (1), p209-231.
- [47] Mcsweeney C.S., Palmer B., Mcneill D.M. and Krause D.O., (2001) Microbial interaction with tannins: nutritional consequences for ruminants. Animal Feed Science and Technology. Vol. (91), p83-93.
- [48] Khenaka K., (2011) Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin. Thèse de Magister En Microbiologie Appliquée. Université Mentouri Constantine. Algérie.
- [49] Haslam E., (1998) Practical Polyphenolics: From Structure to Molecular Recognition and Physiological Action. Ed. Cambridge University Press, Cambridge. UK. p422.
- [50] Favier J.C., Ireland R.J., Toque C. et Feinberg M. (1995) Répertoire général des aliments. Ed. Tec et Doc Lavoisier. INRA. p 897.
- [51] Paolini V., Dorchie Ph., Hoste H. (2003) Effet des tanins condensés et des plantes à tanins sur les strongyloses gastro-intestinales chez le mouton et la chèvre. Alter. Agri., p17-19.
- [52] Bassene E., Mahamat B., Lo m., Boye C.S. et Faye B. (1995) Comparaison de l'activité antibactérienne de trois Combretaceae: *C. micranthum*, *Guiera senegalensis* et *Terminalia avicennioides*. Fitoterapia, 66(1), p86-87.
- [53] Baba Moussa F., Akpagana K., Bouchet P. (1998) Comparaison de l'activité antifongique des feuilles et écorces de tronc de *Pteleopsis suberosa* G. Don (Combretaceae). Acta botanica gallica, 145 (3), p223-288.

- [54] Nonaka GI., Nishioka I., Nishi-Zawa A., Yamagishi T., Kashiwada Y., Dutschman GE., Bodner AJ., Kilkuskie RE., Cheng YC., Lee KH. (1990) Inhibitory effects of tannins on HIV reverse transcriptase and HIV replication in H9 lymphocyte cells. *Journal of Natural Products*, 53(3), p587-595.
- [55] Mota R., Thomas G., Barbosa Filho J.M. (1985) Anti inflammatory actions of tannins isolated from the bark of *Anacardium occidentale* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 13, p289-300.
- [56] Casley-Smith J.R., R. G. PILLER N. B., (1993) Treatment of Lymphedema of the Arms and Legs with 5, 6-Benzo-pyrone, *New Engl. J. Med.* 329. p1158-1163.
- [57] Benayache F. (2005) Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista* (Fabaceae): *G. saharae* *G. ferox*. Thèse de Doctorat en chimie organiques. Université Mentouri. Constantine. Algérie. p199.
- [58] Bruneton J. (1999) Pharmacognosie, phytochimie. Plantes médicinales. Ed. Technique et Documentation. 3ème ed. Paris. France. p1120.
- [59] Cowan N. M. (1999) Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology Reviews*. Vol. 12(4), p564-582.
- [60] Ochocka R.J., Rajzer D., Kowalski., Lamparczyk H. (1995) Determination of coumarins from *Chrysanthemum segetum* L. By capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*. p709, 197-202.
- [61] Taguchi G., Fujikawa S., Yazawa T., Kodaira R., Hayashida N., Shimosaka M., Okazaki M. (2000) Scopoletin uptake from culture medium and accumulation in the vacuoles after conversion to scopolin in 2,4-D-treated tobacco cells. *Plant Science*. p151, 153-161.
- [62] Ojala T., Rames S., Haansu P., Vuorela H., Hiltunen R., Haahtela K., Vuorela P. (2000) Antimicrobial activity of some coumarin containing hebal plants growing in Finland. *Journal of Ethnopharmacology*. p73, 299-305.
- [63] Elbidi A. (2016) Screening phytochimique de quelques plantes steppiques *Artémisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Mémoire de Master professionnel Spécialité Chimie Organique. Université Ziane Achour. Djelfa.

- [64] Lardry J.M. et Haberkorn V. (2007) L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev.* 61, p14-17.
- [65] Lahlou M. (2004) Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour Fragr. J.*, 19, p159-165.
- [66] Chiasson H. et Beloin N. (2007) Les huiles essentielles, des biopesticides « nouveau genre ». *Antennae*, 14(1), p3-6.
- [67] Hendel N. (2017) Etude phytochimique et activités biologiques de *Rosmarinus officinalis* L. et *Thymus ciliatus* de la région de M'sila: applications antifongiques. Thèse Doctorat. Université Ferhat Abbas. Sétif.
- [68] Jacques G. et Paltz. s.a. (1997) Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. Fascicule du laboratoire "Jacque Paltz".
- [69] Catier O. et Roux. D. (2007) Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3ème édition. Cahiers du préparateur en pharmacie. Ed. ISBN. Wolters Kluwer. p77- 79/81-82.
- [70] Rahili G. (2002) Les huiles essentielles et leurs intérêts. La forêt algérienne n°4. Institut national de la recherche forestière. Bainem. Alger.
- [71] Kambouche N. (2000) Extraction, composition chimique de l'HE d'Ajowan (Nounkha) de la région d'Oran- mise en évidence son activité biologique. Mémoire de Magister en Chimie Organique. Université d'Oran Es-Sénia.
- [72] El Abed D. et Kambouche N. (2003) Les huiles essentielles. Edition Dar el Gharb.
- [73] Lamarti A., Badoc A., Deffileux G., et Carde J.P. (1994) Biogénèse des monoterpènes I- localisation et sécrétion. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 133, p69-78.
- [74] Rahal S. (2004) Chimie des produits naturels et des êtres vivants. O.P.U. Edition. p162.
- [75] Lucette Couderc V. (2001) Toxicité des huiles essentielles. Toulouse.
- [76] Belaiche P. (1979) Traité de phytothérapie et d'aromathérapie. Ed. Maloine Tome 1 p 123.

- [77] Hamdani D. (2012) Action des poudres et des huiles de quelques plantes aromatiques sur les paramètres biologiques du bruche de Haricot acanthoscelides obtectus say. Coleoptera Bruchidae. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Mémoire en vue de l'obtention de Magister en sciences biologiques.
- [78] Khenaka K. (2011) Effet de diverses plantes médicinales et de leurs huiles essentielles sur la méthanogénèse ruminale chez l'ovin, Diplôme de Magister En Microbiologie Appliquée, Université Mentouri Constantine.
- [79] Rakotonanahary M. (2012) Thèse présentée pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université Joseph Fourier.
- [80] Figueredo G. (2007) Étude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne, thèse présentée pour obtenir le grade de docteur d'université. Université Blaise pascal.
- [81] Paris M. et Hurabielle M. (1981) Abrégé de matière médicale «Pharmacognosie». Tome 1, Généralités, Morphologies. Ed. Masson, Paris. p256-266.
- [82] Chaumont J.P., Leger D. (1989) Propriétés antifongiques de quelques phénols et de composés chimiquement très voisin. Relation structure-activité. Plant Med. Phylo., 23(2), p124-126.
- [83] Zambonelli A., D'Aurebo A.Z., Severi A., Benvenuti E., Maggi L., Bianchi A. (2004) Chemical composition and fungicidal activity of commercial essential oils of thymus vulgaris L. Journal of Essent. Oil Res., 16(1), p69-74.
- [84] Mangena T., Muyima N.Y.O. (1999) Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artémisia afra*, *pteronia incana* and *rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeast strains. Lett. Appli. Microbiol., 28(4), p291-296.
- [85] El Kalamouni. C. (2010) Caractérisation chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse.
- [86] Mohamed A.H., El-Sayed M.A. and Mohamed N.S., (2010) Chemical constituents and biological activities of *Artemisia herba alba*. Records of natural products; 4, p1-25.

- [87] Mounni M., Elwatik L., Kasimi A. et Homrani B.A. (2013) Induction du chémotype à davone de l'huile essentielle d'armoise blanche « *Artémisia herba alba* » par domestication a Errachidia (Sud-Est du Maroc). Science Lib. Editions Mersenne : vol. 5 n°130506 .
- [88] Ribanicky D.M., Poulev A., Oneal J., Wnorowskig G., Mlek D.E., Jager R. and Raskin I. (2004) Toxicological evaluation of the ethanolic extract of *A. dracunculus* L. for use as a dietary supplement and in functional foods.
- [89] Tastekin D., Atasever M., Adiguzel G., Keles M. and Tastekin A. (2006) Hypoglycaemic effet of *Artemisia herba alba* in experimental hyperglucaemic rats. Bull. Vet. Inst. Pulawy; 50, p235-238.
- [90] Zaim A., El Ghadraoui L. et Farah A. (2012) Effets des huiles essentielles d'*Artémisia herba alba* sur la survie des criquets adultes d'*Euchorthippus albolineatus* (Lucas, 1849). Bulletin de l'institut scientifique, Rabat, Section sciences de la vie, n°34 (2), p127-133.
- [91] Lahsissen H., Kahouadji A., Tijane A. et Hseini S. (2009) Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaïr (Maroc occidental). Lejeunia. Revue de botanique n° 186. Belgique.
- [92] Penchev (2010) étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, thèse en vue de l'obtention du doctorat de l'université de Toulouse.
- [93] Leybros et Fremeaux (1990) Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (*Artémisia herba helba*, *Haloxylonscoparium*, *Peganumharmala* et *Zygophyllum album*).
- [94] Matkowski A. and Piotrowska M. (2006) Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae, *Fitoterapia*, 77 p346-353.
- [95] Giusti M. M. and R. E. Wrolstad (2001) Anthocyanins characterization and New York: John Wiley & Sons: Unit. F1.2.1-13.
- [96] Wang S.Y., Chen P.F. and Chang S.T., (2005) Antifungal activities of essentials oil and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresource Technology*. 96, p813-818.

[97] Piochon M., (2008) Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse. Université de Québec.

[98] Trease G.E measurement with UV-visible spectroscopy. Current protocols in food analytical chemistry., Evans W.C.,(1994) A text book of pharmacognosy (13th edition) Bacilluere Tinal Ltd, London.

[99] Harbone J.B. (1998) phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis 3^{ème} ed.Chapman and hill, p303.

[100] Raffauf R. F. (1996) Plant Alkaloids A Guide to their Discovery and Distribution. Ed Food Products Press, p189- 190.

[101] Karabegovi I., Nikolova M. and Lazi M. (2011) Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of methanolic extracts of the *Artémisia* sp. recovered by different extraction techniques, biotechnology and bioengineering Chinese journal of chemical engineering, 19(3) 504-511.

[102] Wong J.G., Anderson R.A., Graham G.M., Chu M.C., Sauer M.V., Guarnaccia M.M., Lobo R.A., (2006) The effect of cinnamon extract on insulin resistance parameters in polycystic ovary syndrome: a pilot study.

[103] AFNOR. (2000) Huiles essentielles. Echantillonnage et méthode d'analyse. Tome I. Paris.

[104] Abdurrahman Aktumseket (2013) Antioxidant potentials and anti cholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea* L. species, Food and Chemical Toxicology 55, p290–296.

[105] Cavar S., Maksimovic M., Solic M.E., Jerkovic-Mujkic A., Besta R. (2008) Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of two *Satureja* essential oils. Food Chemistry, 111 p648-653.

- [106] Benchaqroun H.K., Ghanami M., Satrani B., Aafi A., Chaouch A. (2012) Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Artemisia mesatlantica*. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 81 p4-21.
- [107] Braz I., Mohamed Hanchour F., (2018) Etude phytochimique et activité antibactérienne de quatre plantes sahariennes (*Artémisia herba alba*, *haloxylon scoparium*, *peganum harmala* et *Zygophyllum album*). Mémoire de Master. Université de Mostaganem.
- [108] Ben Manssour N. (2001) Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des HE d'*Artémisia herba alba* provenant de différentes régions d'Algérie. Thèse de Magister. INA. Alger. p86.
- [109] Cherrak M. (2009) Extraction, identification, pouvoir antibactérien et antifongique l'HE de l'armoise blanche (*Artémisia herba alba*). Mémoire d'ingénieur d'état en Biologie. Djelfa. p38.
- [110] Bezza L., Mannarino A., Fattarsi K., Mikail C., Abou L., Hadji-Minaglou F. and Kaloustian J. (2010). Composition chimique de l'huile essentielle d'*Artémisia herba alba* provenant de la région de Biskra (Algérie). *Phytothérapie*. 8(5). p277-281.
- [111] Elbidi A. (2016) Screening phytochimique de quelques plantes steppiques *Artémisia Campestris* et *Teucrium Polium* de la région de El Hamel wilaya de M'Sila. Mémoire de Magister. Université Ziane Achour . Djelfa.
- [112] Talbi M. (2015) dosage des polyphénols de la plante d'*Artémisia campestris*. L Par chromatographie HPLC, mise en évidence de l'activité biologique. Mémoire de Magister. Université d'Oran 1 Ahmed Benbella.
- [113] Saffidine K. Sahli F. and Zerroug M.M. (2013) Antimicrobial activity of an Algerian medicinal plant: *Carthamus caeruleus* L. *Pharmacognosy Communications*. Volume 3.
- [114] Hebi M. et Eddouks M. (2016) Evaluation de l'activité antioxydant de *Stevia rebaudiana*. *Phytothérapie*.
- [115] Ababsan et Boukaous H. E. k. (2018) Etude phytochimique et activités biologiques de l'extrait méthanolique d'*Artémisia herba alba*. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.